

Vergleich der Wirkung von 100mg
Allopurinol mit einer Kombination von
100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron
auf die Plasmaharnsäure und die renale
Ausscheidung von Harnsäure, Oxypurinen
und Orotsäure sowie die Aktivität
der Orotidyldecarboxylase in
Erythrozyten unter standardisierten
Ernährungsbedingungen

Josef Bartl

*Diss München
1985*

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. N. Zöllner

Vergleich der Wirkung von 100mg Allopurinol mit einer Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron auf die Plasmaharnsäure und die renale Ausscheidung von Harnsäure, Oxypurinen und Orotsäure sowie die Aktivität der Orotidyldecarboxylase in Erythrozyten unter standardisierten Ernährungsbedingungen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig-Maximilian-Universität zu
München

Vorgelegt von
Josef BARTL
aus Niederneuching
München 1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Gröbner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. N. Zöllner
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	29.1. 1985

I. Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Allgemeiner Teil	2
1.1.1. Hyperurikämie und Gicht, Definition und Epidemiologie	2
1.1.2. Medikamentöse Therapie der Gicht	3
1.1.2.1. Allopurinol	3
1.1.2.2. Benzbromaron	4
2. Eigene Untersuchungen	6
2.1. Problemstellung	6
2.2. Methodik	6
2.2.1. Versuchspersonen	6
2.2.2. Diät	6
2.2.3. Gruppeneinteilung	10
2.2.4. Durchführung des Versuchs	11
2.3. Bestimmungsmethoden	13
2.3.1. Harnsäure im Plasma und Urin	13
2.3.1.1. Reagentien	13
2.3.1.2. Durchführung der Harnsäurebestimmung	14
2.3.1.3. Berechnung	15
2.3.2. Orotsäure im Urin	17
2.3.2.1. Reagentien	17
2.3.2.2. Durchführung der Orotsäurebestimmung	18
2.3.2.3. Berechnung der Orotsäure im Urin	19
2.3.3. Oxypurine im Urin	21
2.3.3.1. Reagentien	21
2.3.3.2. Durchführung der Oxypurin-Bestimmung	22
2.3.3.3. Berechnung der Oxypurine im Urin	24
2.3.4. Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten	25
2.3.4.1. Reagentien	25
2.3.4.2. Durchführung der ODC-Bestimmung	26

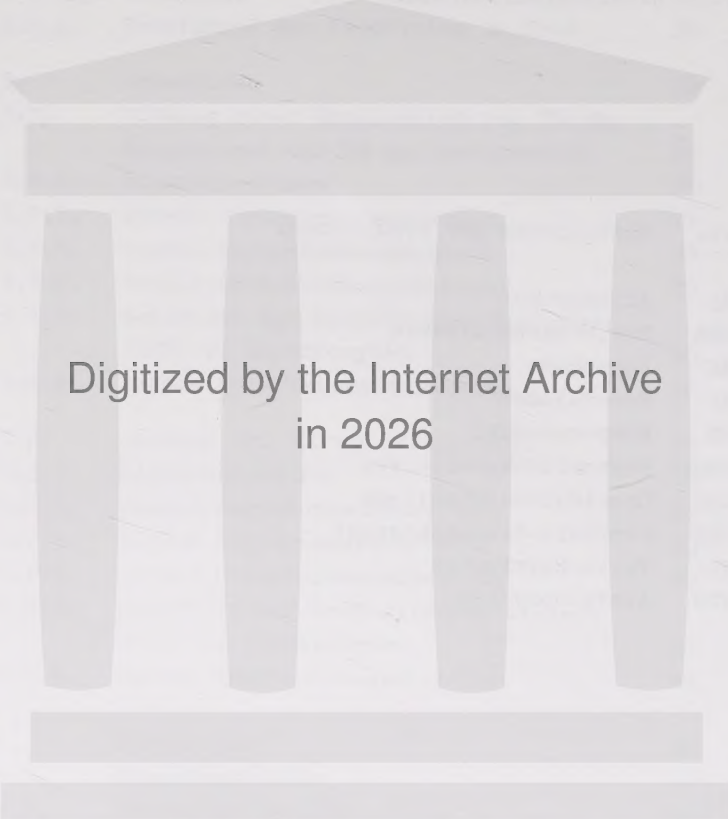
	Seite
2.3.4.3. Durchführung der ODC-Bestimmung	26
2.3.5. Bestimmung des Eiweißgehaltes	28
2.3.5.1. Reagentien	29
2.3.5.2. Durchführung	29
2.3.5.3. Eichkurve	30
2.3.6. Bestimmung des Kreatinins im Urin	32
3. Ergebnisse	33
3.1. Wirkung einer Kombination von 100 mg Allopurinol und 20 mg Benzbromaron	33
3.1.1. Plasmaharnsäure	33
3.1.2. Renale Harnsäureausscheidung	33
3.1.3. Renale Oxypurinausscheidung	34
3.1.4. Renale Orotsäureausscheidung	35
3.1.5. Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten	35
3.1.6. Renale Kreatininausscheidung	36
3.2. Wirkung von 100 mg Allopurinol	39
3.2.1. Plasmaharnsäure	39
3.2.2. Renale Harnsäureausscheidung	39
3.2.3. Renale Oxypurinausscheidung	40
3.2.4. Renale Orotsäureausscheidung	40
3.2.5. Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten	41
3.2.6. Renale Kreatininausscheidung	41
4. Diskussion	46
4.1. Plasmaharnsäure	47
4.2. Harnsäure im Urin	49
4.3. Oxypurine	50
4.4. Orotsäure	51

III

	Seite
4.5. Orotidyldecarboxylase	52
4.6. Kreatinin	52
5. Zusammenfassung	53
6. Graphische Darstellung und Tabellen	56 - 96
7. Literaturverzeichnis	97

II. Verzeichnis der Abkürzungen

Ap	Allopurinol
BSA	Bovin-Serum-Albumin
HS	Harnsäure
HV	Harnvolumen
KG	Körpergewicht
MMSP	Magermilchsprühpulver
ODC	Orotidyldecarboxylase
OMP	Orotidin-5-monophosphat
VP	Versuchspersonen
XOD	Xanthinoxydase



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554004_0033

Vergleich der Wirkung von 100mg Allopurinol mit einer Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benbromaron auf die Plasmaharnsäure und die renale Ausscheidung von Harnsäure, Oxypurinen und Orotsäure sowie die Aktivität der Orotidyldecarboxylase in Erythrozyten unter standardisierten Ernährungsbedingungen.

1. Einleitung

Der Anstieg der Gichtkrankungen nach dem zweiten Weltkrieg ließ deren Behandlung zu einer großen medizinischen Aufgabe werden. Die Fortschritte in der Erforschung der Pathogenese der Gicht sowie in der pharmakologischen Therapie brachten für viele Patienten eine entscheidende Verbesserung. Verschiedene Autoren (25,28) beschrieben eine Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron, die in ihrer Wirkung derjenigen von 300mg Allopurinol entsprechen soll. Nachdem diese Angaben nicht auf Experimenten unter ausreichend standardisierten Ernährungsbedingungen beruhen, war es erforderlich, die Wirkung dieser Arzneimittelkombination unter der Bedingung einer standardisierten Formeldiät zu überprüfen.

An der Medizinischen Poliklinik München wurde deshalb die Wirkung folgender Medikamente bzw. deren Kombinationen verglichen: 20mg Benzbromaron/die, 100mg Allopurinol/die, der Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron pro die sowie von 300mg Allopurinol / die. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Untersuchung der Wirkung der Kombination und von 100 mg Allopurinol.

1.1. Allgemeiner Teil

1.1.1. Hyperurikämie und Gicht, Definition und Epidemiologie

Wir verstehen unter Gicht bestimmte Veränderungen an Gelenken und anderen Geweben durch Erhöhung des Serum-Harnsäurespiegels im Gefolge einer Stoffwechselstörung. Die Harnsäurekonzentration im Serum ist das Ergebnis aus Zufuhr (exogene Purinaufnahme plus endogene Synthese) und Ausscheidung (renal und enteral). Die Grenze zwischen Normo- und Hyperurikämie ist durch die Löslichkeit der Harnsäure im menschlichen Serum bei 37°C festgelegt. Für Mononatriumurat liegt diese Grenze bei 6,4 mg/100ml (14). Von einer Hyperurikämie kann man deshalb ab einer Harnsäurekonzentration von 6,5 mg/100ml und darüber sprechen. Oberhalb dieser Grenze ist mit einem kristallinen Ausfällen von Uraten besonders in den bradytrophen Geweben zu rechnen. Tatsächlich steigt das Risiko, an Gicht zu erkranken, oberhalb der Harnsäuregrenze von 6,5 mg / 100ml rasch an. Die Wahrscheinlichkeit der Ausfällung von Harnsäurekristallen in Gelenken und anderen Geweben ist um so größer, je länger und je höher der Serum-Harnsäurespiegel über der Löslichkeit liegt. Bei einer Serum-Harnsäurekonzentration von z.B. 9mg/100ml ist in 90% früher oder später mit einem Gichtanfall zu rechnen (26).

Da die Häufigkeit des Auftretens von Gicht und Hyperurikämie zu einem großen Teil von der Ernährung abhängt, gilt sie als Wohlstandskrankheit. Während des ersten Weltkrieges und den folgenden wirtschaftlich schlechten Jahren ging die Gichterkrankung drastisch zurück, sodaß Herrick und Tyson 1956 die Formulierung "gout, the forgotten disease" prägen konnten (15). Diese Feststellung traf auch für die ernährungsmäßig schlechten Jahre wäh-

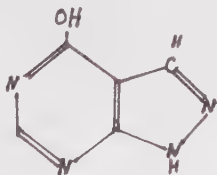
rend und nach dem zweiten Weltkrieg zu. Mit zunehmenden Wohlstand, Überernährung, vermehrten Alkoholgenuß und körperlicher Inaktivität trat die "vergessene Krankheit" wieder verstärkt in Erscheinung (26), sodaß sie heute zum fast täglichen Bild der Allgemein-Praxis gehört.

1.1.2. Medikamentöse Therapie der Gicht

In der medikamentösen Gichttherapie werden Anfallsbehandlung und Dauerbehandlung unterschieden. Im folgenden wird nur auf die medikamentöse Therapie der Hyperurikämie eingegangen. Hierfür werden zwei Stoffgruppen eingesetzt, die Xanthinoxydasehemmer und die Urikosurika. Stellvertretend für jede Gruppe wird ein Medikament besprochen: Allopurinol als Xanthinoxidasehemmer und Benzbromaron als Urikosurikum.

1.1.2.1. Allopurinol

Abbildung 1:



Allopurinol, auf der Suche nach Tumorchemikalien entdeckt, erwies sich auch als Hemmstoff der Harnsäurebil-

dung (35). Die harnsäuresenkende Wirkung wurde durch zahlreiche Autoren bestätigt und führte zum Einsatz von Allopurinol in der Gichtbehandlung (34,37, 40, 41).

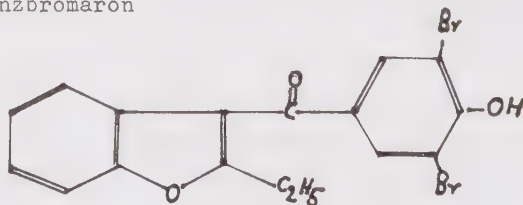
Nach rascher Resorption aus dem Gastrointestinaltrakt ist Allopurinol bereits nach 30 bis 60 Minuten im Plasma nachweisbar (13). Der größte Anteil wird durch Xanthinoxidase zu Oxypurinol oxydiert (7). Unter Allopurinol kommt es infolge der Hemmung der Xanthinoxidase zu ei-

nem Abfall der Serumharnsäure und der renalen Harnsäureausscheidung (33). Gleichzeitig steigt die Konzentration von Hypoxanthin und Xanthin (im folgenden wird die Summe der beiden Substanzen als "Oxypurine" bezeichnet), durch ihre rasche Ausscheidung im Urin ist die Konzentrationserhöhung im Serum jedoch gering (12).

Die Verringerung der renalen Harnsäureausscheidung wird bei den meisten Patienten nicht durch eine entsprechend vermehrte Oxypurinelimination ersetzt (38). Diese Beobachtung läßt sich durch eine Beeinflussung der de-novo-Purinsynthese durch Allopurinol erklären (13). Neben der Beeinflussung des Purinstoffwechsels greift Allopurinol auch in den Pyrimidinstoffwechsel ein. Durch Hemmung des Enzyms Orotidyldecarboxylase kommt es zu einer vermehrten Ausscheidung von Orotsäure und Orotidin. Diese Hemmung der Orotidyldecarboxylase (ODC) ist unter anderem auf die Bildung eines durch Orotatphosphoribosyltransferase synthetisierten Ribonucleotidderivates von Oxypurinol zurückzuführen (10).

1.1.2.2. Benzbromaron

Abbildung 2:



Die harnsäuresenkende Wirkung von Benzbromaron wurde 1965 entdeckt und von zahlreichen Autoren bestätigt (5,44). Etwa 50% der oral gegebenen Dosis wird resorbiert, bereits eine Stunde nach oraler Verabrei-

chung von 100mg Benzbromaron steigt die Harnsäureausscheidung im Urin an (44), bedingt durch die Hemmung der tubulären Harnsäurerückresorption (5,24).

Durch die vermehrte renale Harnsäureausscheidung besteht in den ersten Wochen die Gefahr von tubulären Harnsäureausfällungen. Urikosurika müssen deshalb in langsam ansteigender Dosierung verabreicht werden. Gleichzeitig muß auf eine ausreichende Diurese sowie Harnneutralisierung zu Beginn einer urikosurischen Therapie geachtet werden.

Einige Autoren (1,30) befaßten sich auch mit der Frage ob Benzbromaron Einfluß auf die Purinbiosynthese hat. Ein sicherer Nachweis für einen entsprechenden Einfluß konnte nicht erbracht werden.

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Problemstellung

In dem Versuch sollte der Einfluß von 20mg Benzbromaron, 100mg Allopurinol, 300mg Allopurinol und eine Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron auf die Plasmaharnsäure, die renale Ausscheidung von Harnsäure, Orotsäure und Oxypurine, sowie die Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten untersucht werden.

2.2. Methodik

2.2.1. Versuchspersonen

Die Untersuchungen wurden an drei weiblichen und fünf männlichen gesunden Versuchspersonen im Alter zwischen 24 und 29 Jahren durchgeführt. Vor Versuchsbeginn wurden bei den Probanden im Blut folgende Laborwerte bestimmt: Hämoglobin, Leukozytenzahl, Bilirubin, Harnstoff-N, Kreatinin, Harnsäure, Natrium, Kalium, Kalzium, Glutamat-Oxalat-Transaminase (GOT), Glutamat-Phosphat - Transaminase (GPT), alkalische Phosphatase und die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG). Die Werte lagen alle im Normbereich. Das Gewicht der Versuchsteilnehmer wurde während des Versuchs täglich geprüft. Schweißtreibende Tätigkeiten (Sport, Sauna usw) waren untersagt.

2.2.2. Diät

Während der Versuchsperioden, die dreimal jeweils 14 Tage dauerten, erhielten die Versuchspersonen eine purinfreie, isoenergetische, flüssige Formeldiät (22).

Zusätzlich durfte täglich noch ein Apfel gegessen werden. Zum Trinken wurden Tee, Kaffee und Mineralwasser erlaubt; gesüßt werden durfte nur mit Süßstoff. Jede Versuchsperson bekam zur Diät noch täglich zwei Gramm in Oblaten-Kapseln abgefüllte Ribonukleinsäure (RNS), die sie jeweils mit den Mahlzeiten einnahmen. Durch die Gabe einer definierten Menge RNS sollte experimentell ein kontrollierter Harnsäureanstieg im Serum gewährleistet werden. Die zwei Gramm RNS entsprechen einer durchschnittlichen purinreichen Ernährung.

Die pro Versuchsperson erforderliche Kalorienmenge verteilte sich zu 15% auf Eiweiß, zu 30% auf Fett und zu 55% auf Kohlenhydrate. Als Eiweißträger diente Magermilchsprühpulver (MMSP) (Bayerische Milchindustrie, München), als Kohlehydratträger Maltodextrin (Maizena, Hamburg), als Fett Livio-Speiseöl (Union Deutsche Lebensmittelwerke, Hamburg).

Die benötigten Mengen an Eiweiß, Fett und Kohlehydraten wurden, abhängig von der Kalorienmenge für die jeweilige Versuchsperson in 800 bis 1000 ml Wasser mit Hilfe eines Küchenmixers angerührt und in drei bis vier Kunststoff-Trinkbechern abgefüllt und verschlossen. Die Diät wurde täglich frisch angerührt.

Der Kalorienbedarf für den mittleren Grundumsatz der Versuchspersonen wurde auf die Körperoberfläche bezogen. Dazu verwendeten wir Tabellen nach Boothby und Du Bois (3). Um den Arbeitsumsatz zu erhalten, wurde der Grundumsatz mit dem Faktor 1,6 multipliziert. Dieser Faktor entspricht nach Zöllner (38) einer mittelschweren Büroarbeit.

Berechnung der Diätzusammensetzung pro 100 kcal
(Angaben in Gewichtsprozent):

Eiweißanteil:

Der Proteinträger, das Magermilchsprülpulver (MMSP), setzt sich zusammen aus:

Eiweiß	35%
Laktose	47%
Fett	0,75%
Mineralien u.a.	
Substanzen	12,25%
Feuchtigkeitsgehalt	5%

Auf 100 Kalorien (kcal) bezogen, ergibt sich folgende Menge an MMSP:

15% von 100 Kilokalorien sind 15 Kilokalorien

Da 1 g Eiweiß 4 kcal entsprechen, folgt:

15 kcal = 3,75 g Eiweiß

Da im MMSP 35% Eiweiß enthalten sind, errechnet sich die MMSP-Menge zu:

$$3,75 \frac{100}{35} = 11,36 \text{ g}$$

und bei 5% Feuchtigkeitsgehalt zu:

$$3,75 \frac{100}{95} = 11,93 \text{ g pro 100 kcal}$$

In diesen 11,93 g MMSP befinden sich noch, da der KH-Anteil 47% beträgt:

$$11,36 \frac{47}{100} = 5,22 \text{ g KH}$$

desweiteren 0,083 g Fett entsprechend 0,75 % Fettgehalt des MMSP.

Kohlenhydratanteil:

Der Kohlenhydratträger Maltodextrin setzt sich zusammen aus:

Kohlenhydrat (KH)	94,5 %
Feuchtigkeitsgehalt	5,5 %

Auf 100 kcal bezogen ergibt sich folgende Menge an Kohlenhydraten:

55% von 100 kcal sind 55 kcal

Da 1 g KH 4,1kcal entsprechen, folgt:

$$55 \text{ kcal} = 13,75 \text{ g KH}$$

Von diesen 13,75 g muß die KH-Menge, die im MMSP enthalten ist abgezogen werden:

$$13,75\text{g} - 5,22\text{g} = 8,53 \text{ g}$$

Bei einem Wassergehalt von 5,5% werden daher

$$8,53 \frac{100}{94,5} = 9,02 \text{ g KH pro 100kcal benötigt.}$$

Fettanteil

Auf 100kcal bezogen ergibt sich folgende Menge an Fett:

30% von 100 kcal sind 30 kcal

Da 1 g Fett 9 kcal entsprechen, folgt:

$$30\text{kcal} = 3,33.. \text{ g Fett}$$

Abzüglich der im MMSP enthaltenen Fettmenge ergibt sich:

$$3,33\text{g} - 0,083\text{g} = 3,25\text{g Fett Pro 100 kcal.}$$

Gesamtmenge an Eiweiß, Kohlenhydraten und Fett

Um die pro Tag im einzelnen benötigte Menge an MNSP, Maltodextrin und Öl für die einzelnen Versuchspersonen zu finden, wird die auf 100 kcal bezogene Menge mit dem Faktor

$$\frac{\text{Gesamtkalorienmenge} / \text{Person u. Tag}}{100} \quad \text{multipliziert.}$$

Die von den einzelnen Versuchspersonen benötigten Kalorienmengen sind in der Tabelle 8 angegeben.

2.2.3. Gruppeneinteilung

Vor Versuchsbeginn wurden die Versuchspersonen (VP) in zwei Gruppen mit laufenden Nummern eingeteilt.

Gruppe eins: VP 1-4.

Gruppe zwei: VP 5-8. (siehe Abbildung 3)

Die Aufteilung war willkürlich mit der Einschränkung, daß nicht alle drei Frauen in der gleichen Gruppe zusammengefaßt wurden.

2.2.4. Durchführung des Versuchs

Die ersten sieben Tage jeder Versuchsperiode dienten zur Einstellung eines steady state unter Formeldiät plus RNS. Während der zweiten Hälfte jeder Versuchsperiode (8-14. Versuchstag) bekamen die Versuchspersonen zusätzlich zu Diät und RNS täglich morgens als Einzeldosis das entsprechende Medikament. Ausnahme: 300mg Allopurinol wurde zu drei mal 100mg über den Tag verteilt eingenommen.

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes

Versuchs- perioden Gruppe	I	II	III
I VP 1-4	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 20mg Benz-bromaron 14 Tage	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 300mg Allo-purinol 14 Tage	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 100mg Allopurinol + 20mg Benz-bromaron 14 Tage
II VP 5-8	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 100mg Allopurinol 14 Tage	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 100mg Allopurinol + 20mg Benzbromaron 14 Tage	1 Purinfreie Diät + 2g RNS 7 Purinfreie Diät + 2g RNS + 300mg Allopurinol 14 Tage

Zwischen den Versuchsperioden wurde eine Pause von jeweils einer Woche eingehalten, um die Medikamente und ihre Metaboliten abzubauen und auszuschcheiden.

Es wurden dann noch zwei Ergänzungsversuch mit drei bzw. vier Probanden über jeweils 14 Tage unter den selben Bedingungen wie die vorhergehenden Versuche durchgeführt.

Die Blutentnahme erfolgte immer am Morgen jeden zweiten Tages, die Versuchspersonen erschienen dazu nüchtern im Labor. Zusätzlich wurde noch am 8. und 14. Versuchstag Blut abgenommen, um ein steady state am Ende der Vorperiode und am Schluß der Versuchsperiode besser verfolgen zu können.

Jedem Probanden wurde jeweils ca 20 ml Venenblut in heparinisierte Röhrchen (Thrombophob^R, Nordmark-Werke, Hamburg) abgenommen.

Das Blut wurde dann bei +4°C und 2000 U/min 20 Minuten lang in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert, anschließend das Plasma abpipettiert und eingefroren. Die Erythrozyten wurden noch zweimal mit kalter 0,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen und jeweils 15 Minuten lang bei +4°C und 2000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde jeweils abpipettiert und verworfen. Die gewaschenen Erythrozyten wurden dann ebenfalls eingefroren.

Die Versuchspersonen sammelten täglich 24h- Urin in Kunststoffflaschen. Im Labor wurde der Urin aufgerührt, um auskristallisierte Harnsäure wieder in Lösung zu bringen. Dann wurde die Urinmenge gemessen und ein Aliquot davon eingefroren. In die Kunststoffflaschen wurde vor Ausgabe an die Probanden 5ml Toluol eingefüllt. Dadurch sollte einer Keimvermehrung im Sammelurin vorgebeugt werden.

2.3. Bestimmungsmethoden

2.3.1. Harnsäure im Plasma und Urin

Die Harnsäure im Plasma und Urin wurde enzymatisch bestimmt nach der Methode von Praetorius und Poulsen (31) in der Modifikation von Zöllner (39).

Das Prinzip dieser enzymatischen Bestimmung beruht auf der Einwirkung von Uricase auf die Harnsäure, die dabei in Allantoin umgewandelt wird. Die Harnsäure hat ein Absorptionsmaximum bei 293 nm, Allantoin zeigt bei dieser Wellenlänge keine Absorption. Gemessen wird bei dieser Methode die Extinktionsdifferenz zwischen Proben ohne und mit Zusatz von Uricase. Der Extinktionsabfall ist der Harnsäurekonzentration direkt proportional.



2.3.1.1. Reagentien

- Glycinpuffer-Stammlösung, 2/3 molar, pH 7,3 (bezogen aus der Apotheke der Poliklinik der Universität München)
- Uricase, 75 U/ Ampulle (Løvens Kemiske Fabrik, Søllerup, Dänemark)

Aus der 2/3 molaren Glycinpuffer-Stammlösung wurde die Puffer-Gebrauchslösung gewonnen, indem die Stammlösung im Verhältnis 1:10 mit Aqua bidest verdünnt wurde.

Die Uricase-Gebrauchslösung wurde hergestellt, indem die Uricase in 25ml der Glycinpuffer-Gebrauchslösung suspendiert wurde.

Die Eigenextinktion dieser Uricase-Gebrauchslösung liegt nach Zöllner (39) zwischen 0,010 und 0,015. In unseren Versuchen ergab sich eine durchschnittliche Eigenextinktion von 0,0135.

2.3.1.2. Durchführung der Harnsäure-Bestimmung im Plasma und Urin

Die Röhrchen und Gläser mit dem tiefgefrorenen Plasma und Urin wurden im Wasserbad bei 37°C aufgetaut und geschüttelt. Zur Herstellung der Bestimmungsreihen wurde jeweils 1,0 ml des Plasma bzw. 0,2 ml des Urins mit Glycinpuffer-Gebrauchslösung in Meßkölbchen auf 25,0 ml aufgefüllt, also auf 1:25 bzw. 1:125 verdünnt.

Bei der Erarbeitung einer Eichkurve, der Herstellung der Ansätze und den photometrischen Messungen hielten wir uns genau an die Angaben von Zöllner (39).

Wir stellten folgende Ansätze zur Photometrie her:

Bestimmung der Eigenextinktion des Enzyms (E'):

- | | |
|------------------------------|---|
| 1. Reagenzglas
(Probe) | 2,0ml Glycinpuffer-Gebrauchslösung
+ 1,0ml Uricase-Gebrauchslösung |
| 2. Reagenzglas
(Leerwert) | 3,0ml Glycinpuffer-Gebrauchslösung |

Bestimmung des Extinktionsabfalles im Plasma bzw. Urin (E):

- | | |
|---------------------------|---|
| 1. Reagenzglas
(Probe) | 2,0ml verdünntes Plasma bzw. Urin
+ 1,0ml Uricase-Gebrauchslösung |
| 2. Reagenzglas | 2,0ml verdünntes Plasma bzw. Urin
+ 1,0ml Glycinpuffer-Gebrauchslösung |

Alle Ergebnisse wurden als Doppelbestimmungen am Spektralphotometer (Spectrophotometer Model 25, Beckman, USA) bei 293 nm mit Quarzküvetten von 1cm Schichtdicke ermittelt. In Stichproben wurden einige Messungen nach ca 15 Minuten wiederholt, um sicher zu gehen, daß die Uricasereaktion abgeschlossen war.

2.3.1.3. Berechnung der Harnsäurekonzentration im Plasma und Urin

Die photometrische Ablesung der Serumverdünnung vor der Uricaseeinwirkung gegen die Serumverdünnung nach der Uricaseeinwirkung (E) berücksichtigt nicht, daß nur in einem Ansatz Uricase mit der Eigenextinktion E' zuge-
setzt ist. Der Extinktionsdifferenz E ist somit die Eigenextinktion E' der Uricase zuzuzählen. Die Summe (E' + E) ist proportional der Harnsäurekonzentration.

Bei der Berechnung kommt das Lambert-Beer'sche Gesetz $E = e \cdot c \cdot d$ zur Anwendung.

$$\text{Daraus folgt } c = \frac{E}{e \cdot d} \left(\frac{\text{ug}}{\text{ml}} \right)$$

Auf unsere Bestimmung bezogen lautet die Formel:

$$c_{\text{HS}} = \frac{E' + E}{e \cdot d} \left(\frac{\text{ug}}{\text{ml}} \right)$$

Zeichenerklärung:

c_{HS} : Harnsäurekonzentration

E' : Eigenextinktion des Enzyms

E : Extinktionsabfall im Plasma- bzw. Urinansatz

e : Extinktionskoeffizient der Harnsäure (0,075cm²/ug)

d : Schichtdicke der Küvette (1 cm)

Unter Berücksichtigung der Verdünnung und der Umrechnung auf mg/100 ml ergibt sich für die Harnsäurekonzentration im Plasma die Formel :

$$c_{\text{HS}} = \frac{(E' + E) \cdot 25 \cdot 100 \cdot \frac{3}{2}}{0,075 \cdot 1000 \cdot 2} \quad (\text{mg} / 100\text{ml})$$

und im Urin:

$$c_{\text{HS}} = \frac{(E' + E) \cdot 125 \cdot 100 \cdot \frac{3}{2}}{0,075 \cdot 1000 \cdot 2} \quad (\text{mg} / 100\text{ml})$$

Erklärung der eingesetzten Zahlen:

0,075 ist der Extinktionskoeffizient der Harnsäure mit der Einheit $\text{cm}^2 / \mu\text{g}$. Der Faktor 1000 korrigiert den auf μg bezogenen Extinktionskoeffizienten der Harnsäure auf mg. Die Berechnung der Konzentration in der ersten Formel bezieht sich auf einen ml, um sie auf 100ml zu beziehen, muß mit dem Faktor 100 multipliziert werden.

Um die Verdünnung 1,0 ml Plasma ad 25 ml Pufferlösung zu berücksichtigen, muß mit dem Faktor 25 multipliziert werden. Für obige Messungen wurde den 2,0ml Plasma-Verdünnungen noch 1,0ml Uricase-Gebrauchslösung zugegeben, um diese weitere Verdünnung im Verhältnis 2:3 auszugleichen, muß noch der Faktor $3/2$ eingesetzt werden.

Durch Kürzen erhält man die Formel für die Harnsäurekonzentration im Plasma:

$$c_{\text{HS}} = (E' + E) \cdot 50 \quad (\text{mg}/100\text{ml})$$

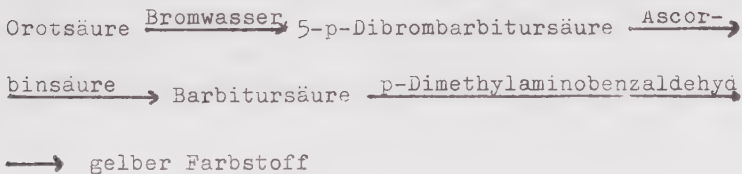
bzw. im Urin:

$$c_{\text{HS}} = (E' + E) \cdot 250 \quad (\text{mg}/100\text{ml})$$

2.3.2. Orotsäure im Urin

Die Orotsäure im Urin wurde bestimmt mittels einer colorimetrischen Methode nach Rogers und Porter (32), modifiziert nach Janssen, Gröbner und Zöliner (unveröffentlicht).

Das Prinzip dieser colorimetrischen Bestimmungsmethode beruht darauf, daß die Orotsäure mit Bromwasser zu 5-p-Dibrombarbitursäure reagiert und diese durch Ascorbinsäure zu Barbitursäure reduziert wird. Die Barbitursäure bildet mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlich's Reagens) einen gelben Farbstoff, der bei 480 nm Wellenlänge seine maximale optische Dichte hat.



Zur Bestimmung der Orotsäure im Urin nach obiger Methode muß jedoch noch beachtet werden, daß im Urin noch zahlreiche andere Substanzen vorhanden sind, welche bei 412 nm ein Maxima und bei 480 nm ein Plateau aufweisen und damit die Bestimmung der Orotsäuremenge stören. Nur wenn hohe Orotsäurekonzentrationen vorhanden sind, wie das z.B. unter Allopurinolmedikation oder bei Patienten mit hereditärer Orotacidurie der Fall ist (44), ist eine Quantifizierung der Orotsäure möglich.

2.3.2.1. Reagentien

- Kaliumcitratpuffer, 0,2 M, pH 2,5
- gesättigtes Bromwasser
- 5%ige Ascorbinsäure in Kaliumcitratpuffer
- p-Dimethylaminobenzaldehyd, 2,5 %ig, gelöst in n-Propanol (Ehrlich's Reagens)

- Aqua bidest
alles bezogen aus der Apotheke der Poliklinik der Universität München
- Orotsäure, rein (Merck, Darmstadt)

2.3.2.2. Durchführung der Orotsäurebestimmung

Vor Beginn der Orotsäurebestimmungen im Urin wurde aus einer Orotsäurestammlösung und mit den dann zur Analyse verwendeten Reagentien eine Eichkurve erstellt und deren Steigung t ermittelt.

Wir stellten dazu aus Orotsäure und Aqua bidest eine 8mg %ige Orotsäurestammlösung her, die 1/2 Stunde mit einem Magnetrührer erwärmt und gerührt wurde, der pH war auf 7 eingestellt.

Wir stellten eine Verdünnungsreihe aus Kaliumcitratpuffer 0,2 M, pH 2,5 und einer Orotsäurestammlösung, 8mg % her.

Ansatz der Verdünnungsreihe:

Orotsäurestamm- lösung	Kaliumcitrat- puffer	eingesetzte Orotsäuremenge
0,50 ml	0,00 ml	40,0 mg 10^{-3}
0,40 ml	0,10 ml	32,0 mg 10^{-3}
0,30 ml	0,20 ml	24,0 mg 10^{-3}
0,20 ml	0,30 ml	16,0 mg 10^{-3}
0,10 ml	0,40 ml	8,0 mg 10^{-3}
0,09 ml	0,41 ml	7,2 mg 10^{-3}
0,05 ml	0,45 ml	4,0 mg 10^{-3}

Zur Bestimmung der Eichkurve wurden die Verdünnungen nach dem nachfolgenden Schema weiter behandelt und mit den erhaltenen Zahlenwerten eine Eichkurve erstellt.

Ansatz für die Extinktionsbestimmung der Orotsäure in einem Analysat (Orotsäurestammlösung bzw. Urin):

	<u>Leerwert</u>	<u>Analyse</u>
Orotsäurestammlösung bzw. Urin	----	0,5 ml
Kaliumcitratpuffer 0,2 M, pH 2,5	3,0 ml	2,5 ml
gesätt. Bromwasser	0,5 ml	0,5 ml
<u>nach 1 Minute</u>		
Ascorbinsäure, 5%ig	1,0 ml	1,0 ml
<u>nach 2 Minuten</u>		
Ehrlich's Reagens	2,0 ml	2,0 ml

Die Ansätze wurden sofort geschüttelt und nach 90 Minuten im Photometer abgelesen. Die Orotsäurestammlösung für die Eichkurve wurde nur bei 480 nm abgelesen. Die Urin-Ansätze wurden bei 480 nm und 412 nm abgelesen.

Sobald frische Reagentien verwendet wurden, wurde eine neue Eichkurve erstellt.

Für die Orotsäurebestimmung wurden die eingefrorenen Urin-Proben im Wasserbad bei 37°C aufgetaut. Nachdem der Niederschlag vollständig gelöst war, wurde ein Teil des Urins für die Bestimmung filtriert und nach dem obigen Ansatz weiter behandelt.

2.3.2.3. Berechnung der Orotsäure im Urin

Die von den oben schon erwähnten Autoren modifizierte

Methode der Orotsäurebestimmung im Urin läßt eine bessere Quantifizierung der Orotsäure um Urin zu als in der Form von Rogers und Porter (32).

Die dabei gefundene Extinktionsdifferenz $E_{480} - \frac{1}{2} E_{412}$ ist der Orotsäureausscheidung proportional.

Dieser Extinktionsdifferenz wird in der Eichkurve die entsprechende Orotsäuremenge zugeordnet. Durch Berücksichtigung der Verdünnung und Multiplikation mit dem täglichen Harnvolumen (HV)(in ml) ergibt sich folgende Beziehung, nach der die Menge der Orotsäureausscheidung im Urin in mg/die ermittelt werden kann:

$$\text{Orotsäure}_{\text{Urin}}(\text{mg/die}) = \frac{1}{t} \cdot (E_{480} - \frac{1}{2} E_{412}) \cdot 2 \cdot \text{HV}$$

Zeichenerklärung:

t : Steigung der Eichkurve

E_{480} : Extinktion gemessen bei 480 nm

E_{412} : Extinktion gemessen bei 412 nm

2 : Multiplikator, um die eingesetzten 0,5 ml Urin auf 1 ml zu beziehen

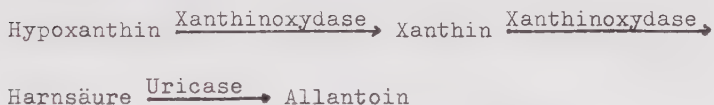
HV : Harnvolumen in ml /die

2.3.3. Oxypurine im Urin

(Oxypurine: Hypoxanthin, Xanthin)

Die Oxypurine im Urin wurden enzymatisch bestimmt nach einer modifizierten Methode von Klinenberg et al. (21).

Das Prinzip dieser Methode beruht darin, daß Hypoxanthin und Xanthin durch Xanthinoxidase (XOD) in Harnsäure umgewandelt und diese durch Uricase zu Allantoin abgebaut wird.



Wird die im Urin ausgeschiedene Harnsäure in einem Ansatz mit Uricase zu Allantoin abgebaut und in einem zweiten Ansatz die vorgebildete Harnsäure und die nach Xanthinoxidase-Zugabe aus den Oxypurinen neugebildete Harnsäure insgesamt zu Allantoin abgebaut, so erhält man die aus Oxypurinen neugebildete Harnsäure aus der Differenz zwischen den Harnsäuremengen aus Ansatz 1 und Ansatz 2.

D.h.:

$$\begin{aligned} \text{Oxypurin-Harnsäure} &= \text{Gesamt-Harnsäure (nach XOD-Zugabe)} \\ &\quad - \text{präformierte Harnsäure} \end{aligned}$$

2.3.3.1. Reagentien

- Xanthinoxidase aus Kuhmilch, Aktivität: 0,4U/ mg (Boehringer, Mannheim)
- Katalase aus Rinderleber (Boehringer, Mannheim)
- Uricase, 75 U/Ampulle (Løvens Kemiske Fabrik Ballerup, Dänemark)
- Natrium-Pyrophosphat-Puffer (NaPP-Puffer) 0,1 M, pH 8,6

- Glycin-Puffer 0,1 M, pH 9,3
- Muldestor: pyrogenfreies, metallionenefreies destilliertes Wasser

Die Xanthinoxydase (XOD) wurde auf 4 U/ml verdünnt. Dazu wurde Natrium-Pyrophosphat (Na-PP)-Puffer und Katalase(unverdünnt) verwendet. Die Katalase hat die Aufgabe durch Spaltung des entstehenden H_2O_2 den oxydativen Abbau der Harnsäure im Reaktionsgemisch zu verhindern.

Die Uricase wurde mit dem Glycin-Puffer 1:25 verdünnt, der Glycin-Puffer wurde seinerseits mit Muldestor 1:50 verdünnt.

2.3.3.2. Durchführung der Oxypurin-Bestimmung

In vier Reagenzgläser wurden jeweils 1 ml der Urinverdünnung und 2 ml NaPP-Puffer einpipettiert.

Glas 1 und 2 entsprachen den Doppelwerten von Ansatz 1, Glas 3 und 4 entsprachen den Doppelwerten von Ansatz 2.

Zuerst wurde die Extinktion des Urin/Puffergemisches aller vier Reagenzgläser gemessen (E_1). Dabei mußte der Küvetteninhalt möglichst quantitativ wieder zurückgegeben werden. Anschließend wurde in Ansatz 2 0,01 ml Xanthinoxydase gegeben, geschüttelt und nach ca 30 Minuten abgelesen (E_3). Auch hier wurde der Küvetteninhalt wieder in das jeweilige Reagenzglas zurückgegeben. Dann wurde in die Reagenzgläser 1-4 0,5 ml Uricase einpipettiert und nach 3-4 Stunden die Extinktion gemessen (E_2 aus Ansatz 1 und E_4 aus Ansatz 2).

Die Extinktionen wurden am Spektralphotometer bei 293 nm abgelesen. Als Referenz diente Aqua bidest.

Die Eigenextinktionen der Xanthinoxydase- und Uricasegebrauchslösungen brauchten nicht extra bestimmt zu werden, da sie aufgrund von Differenzbildungen in der Berechnung wegfielen.

Abbildung 4

Übersicht der Ansätze zur Bestimmung der Oxyपुरine

Ansatz 1		Ansatz 2	
Reagenzglas 1	Reagenzglas 2	Reagenzglas 3	Reagenzglas 4
1ml Urinverdün.	1ml Urinverdün.	1ml Urinverdün.	1ml Urinverdün.
2ml NaPP-Puffer	2ml NaPP-Puffer	2ml NaPP-Puffer	2ml NaPP-Puffer
-----	-----	0,01ml XOD	0,01ml XOD
0,5ml Uricase	0,5ml Uricase	0,5ml Uricase	0,5ml Uricase

2.3.3.3. Berechnung der Oxypurine im Urin

Für Ansatz 1 (A_1) gilt:

$$A_1 = (E_1 - E_2 \cdot \frac{3,5}{3}) \cdot \frac{3 \cdot 50 \cdot 2}{0,075 \cdot 1000} = \text{präformierte Harnsäure (mg/ml)}$$

und für Ansatz 2 (A_2) gilt:

$$A_2 = (E_3 - E_4 \cdot \frac{3,5}{3}) \cdot \frac{3 \cdot 50 \cdot 2}{0,075 \cdot 1000} = \text{präformierte + neu-gebildete Harnsäure (mg/ml)}$$

Erklärung der Zahlen:

E_2 und E_4 müssen mit dem Faktor $\frac{3,5}{3}$ multipliziert werden, um auf das Gesamtvolumen von 3 ml zu korrigieren. Mit den Faktoren 3 und 50 wird die Verdünnung im Ansatz bzw. die Urinverdünnung ausgeglichen. 0,075 ist der Extinktionskoeffizient der Harnsäure auf μg bezogen, um ihn auf mg zu beziehen muß er mit dem Faktor 1000 multipliziert werden. Der Faktor 2 korrigiert die für den Ansatz verwendeten 0,5 ml Urin auf 1 ml.

Aus der Differenz der Ansätze ergeben sich die Oxypurine als Harnsäure.

Es gilt: $A_2 - A_1 = \text{Oxypurin-Harnsäure (mg/ml)}$

obige Formeln eingesetzt und gekürzt ergibt:

$$(E_3 - E_4 \cdot \frac{3,5}{3} - E_1 + E_2 \cdot \frac{3,5}{3}) \cdot 4 = \text{Oxypurin-Harnsäure (mg/ml)}$$

Um die tägliche Oxypurinausscheidung im Urin zu erhalten, muß das Ergebnis noch mit dem Harnvolumen ($\text{ml}/24\text{h}$) multipliziert werden.

2.3.4. Bestimmung der Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten

Die Orotidyldecarboxylase (ODC) wurde mikroradiochemisch bestimmt unter Verwendung von Orotidin-5-monophosphat-7- ^{14}C (OMP-7- ^{14}C) nach der Methode von Kelley und Beardmore (23).

Die ODC katalysiert die für die de-novo-Pyrimidinsynthese essentielle Umwandlung von OMP in UMP. Bei der Decarboxylierung, die irreversibel ist, wird von jedem umgewandelten Molekül OMP ein Molekül CO_2 abgegeben. Zur Aktivitätsmessung wird OMP verwendet, bei dem die Carboxylgruppe radioaktiv markiert ist (OMP-7- ^{14}C). Bei der durch ODC katalysierten Reaktion wird so markiertes $^{14}\text{CO}_2$ abgespalten. Dieses wird an Hyaminhydroxid gebunden. In einem Scintillationszähler wird die Intensität der radioaktiven Strahlung gemessen. Sie ist der Menge der abgespaltenen $^{14}\text{CO}_2$ -Moleküle und damit der spezifischen Aktivität der ODC proportional.



2.3.4.1. Reagentien

- Kalium-Phosphat-Puffer, 0,01M, pH 7,4
- Tris-Cl-Puffer, 10 mM, pH 7,4
- Perchlorsäure 4,0 M
- Scintillationsflüssigkeit: 9,45 g PPO, 0,195 g POPOP, Toluol ad 2500 ml (PPO = 2,5 -Diphenyl-oxazol, POPOP = 2,2'-para-Phenyl-bis-(5-Phenylloxazol)
(alles bezogen aus der Apotheke der Poliklinik der Universität München)

- Hyamin-Hydroxid (Packard, Downers Grove, Ill., USA)
- OMP-7- ^{14}C , spezifische Aktivität 34,9 mCi/mmol
(New England Nuclear, Boston, USA)

Benötigt wurden außerdem Reagenzgläser mit Gummistopfen, die Auffangkölbchen enthielten und eine Spritze mit Nadel zur Injektion der Perchlorsäure durch die Gummistopfen zum Stoppen der Reaktion.

2.3.4.2. Durchführung

Gewinnung des Hämolysats: Die zwei Mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschenen und einmal eingefrorenen Erythrozyten (Bereitung siehe 2.2.4.) wurden aufgetaut, nochmals kurz eingefroren (ca 15 min.) und wieder aufgetaut, anschließend dialysiert.

Die Dialyse des Hämolysats erfolgte bei $+4^{\circ}\text{C}$ 2 Stunden lang gegen 0,1 M Tris-Cl-Puffer, pH 7,4.

Das Hämolysat wurde mit dem Kaliumphosphatpuffer im Verhältnis 1:10 verdünnt. Das OMP-7- ^{14}C mit dem selben Puffer auf 1:20.

In die Auffangkölbchen wurden 0,2 ml Hyaminhydroxid pipettiert. In die Reagenzgläser, die auf Eis standen, wurden für den Leerwert 50 μl Puffer und für die Analysen 50 μl Hämolysat-Verdünnung einpipettiert, anschließend 50 μl OMP-7- ^{14}C zugegeben und sofort mittels den bereitgestellten Gummistopfen mit den Auffangkölbchen verschlossen.

Das durch die ODC freigesetzte $^{14}\text{CO}_2$, wurde durch Hyaminhydroxid in den Auffangkölbchen gebunden. Der Ansatz wurde umgehend in einen Schüttelinkubator gestellt und verblieb dort bei 37°C 15 Minuten lang. Dann wurde die Reaktion durch die Injektion von 0,2 ml 4 M Perchlorsäure gestoppt. Der Ansatz blieb noch weitere 60 Minuten im Schüttelinkubator. Anschließend wurde der

Gummistopfen mit dem Auffangkölbchen vorsichtig entfernt, das Auffangkölbchen außen getrocknet, abgeschnitten und in 10 ml Scintillationsflüssigkeit gegeben.

Die Radioaktivität wurde in einem Packard-Tri-Carb-Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard, Downers Grove, Ill, USA) über 15 Minuten gemessen.

Die Ausbeute der Zählung (counting efficiency) liegt nach Messungen unseres Labors bei 75 %, nach Kelley und Beardmore bei 81 % (19).

Die angegebenen Ergebnisse sind Mittelwerte aus drei Bestimmungen.

2.3.4.3. Berechnung der Aktivität der ODC

Die Freisetzung des $^{14}\text{CO}_2$ ist proportional der Inkubationszeit und der Eiweißkonzentration des Dialysats (19).

Es gilt folgende Formel:

$$\text{Aktivität der ODC} = \frac{\text{cpm} \cdot 4 \cdot 10 \cdot 20}{2,22 \cdot 10^6 \cdot y \cdot p \cdot 400 \cdot 5 \cdot 0,75} \left(\frac{\text{nr. ol}}{\text{mg} \cdot \text{h}} \right)$$

obige Formel gekürzt ergibt:

$$\text{Aktivität der ODC} = \frac{\text{cpm}}{y \cdot p \cdot 41,6 \cdot 10^3} \left(\frac{\text{nr. ol}}{\text{mg} \cdot \text{h}} \right)$$

Zeichenerklärung:

y : spezif. Aktivität von OMP-7- ^{14}C (mCi/mMol)

p : Proteinmenge (ug)

0,75: Effektivität des Packard-Scintillationszählers
Faktor 4 korrigiert die 15minütige Reaktionsphase auf 1 Stunde.

Faktor 10 korrigiert die Hämolysat-Verdünnung

Faktor 20 korrigiert die für die Reaktion eingesetzten
50 μ l auf 1 ml

$2,22 \cdot 10^6$: Counts/ μ Ci

Faktor 400 korrigiert die Hämolysat-Verdünnung für die
Eiweißbestimmung.

Faktor 5 korrigiert die für die Eiweißbestimmung ein-
gesetzten 0,2 ml Hämolysatverdünnung auf 1 ml.

cpm: Counts, gemessen im Scintillationszähler in 15
Minuten.

2.3.5. Bestimmung des Eiweißgehaltes

Die Aktivität des Enzyms ODC wird auf mg Protein bezo-
gen. Dazu wird der Proteinanteil in den Erythrozyten -
Dialysaten gemessen. Die Bestimmung erfolgt nach der
Methode von Lowry et al. (23).

Das Prinzip dieser Bestimmungsmethode beruht darauf,
daß Eiweiß in alkalischem Medium mit Kupferionen unter
Bildung eines Farbkomplexes eine Biuretreaktion eingeht.
Zugegebene Folin-Phenol-Reagens wird reduziert, wobei
der Protein-Kupfer-Komplex an Farbintensität zunimmt.
Das Reagens wird während der Reaktion inaktiviert, die
Farbveränderung entwickelt sich aber noch einige Mi-
nuten weiter. Sie erhält ein Maximum an Intensität,
wenn die Lösung mit einer Mischung aus NaOH und Na_2CO_3
bei pH 10 gepuffert ist und möglichst schnell durch
Schütteln komplett gemischt wird (23). Die Absorption
des Farbkomplexes wird am Photometer bei 498 nm be-
stimmt und ist dem Proteingehalt proportional.

2.3.5.1. Reagentien

- A: 2%ige Natrium-Carbonatlösung in 0,1 N NaOH
 - B: 0,5%ige $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ in 1%igen Kalium-Natrium-Tatrat
 - C: Gebrauchslösung aus 50 ml(A)plus 1 ml(B)
 - Isotone Kochsalzlösung
- (alles bezogen aus der Apotheke der Poliklinik der Universität München)
- Folin-Ciacalteus-Phenol-Reagens (Merck, Darmstadt)
Gebrauchslösung: Verdünnung des Folin-Reagens 1:2 mit Aqua bidest.
 - Rinder-Serum-Albumin(BSA), Fa. Behring-Werke, Marburg)
Gebrauchslösung: 1 mg BSA wird in 1 ml Aqua bidest aufgelöst ($\hat{=}$ 100mg %)

2.3.5.2. Durchführung

Für die Bestimmung der Aktivität der ODC wurde das Erythrozytendialysat 1:20 verdünnt mit 0,01 M Kaliumphosphat-Puffer, pH 7,4 (siehe 2.3.4.1.) . Von dieser HämolySATverdünnung wurden 10 ul mit 190 ul physiologischer NaCl-Lösung auf ein Gesamtvolumen von 200 ul aufgefüllt. Die endgültige HämolySATverdünnung war somit 1:400.

Ansatz zur Bestimmung des Eiweißes in der Eichlösung bzw. in den Erythrozyten:

<u>Leerwert</u>	<u>Analyse</u>
0,2 ml NaCl-Lösung	0,2 ml HämolySAT-Verdün.
+ 2 ml Reagens (C)	+ 2 ml Reagens (C)

Die Ansätze wurden geschüttelt und blieben 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen.

Dann wurden in den Ansatz des Leerwertes und der Analyse jeweils 0,2 ml von dem Reagens(D) einpipettiert. Die Ansätze wurden erneut geschüttelt und weitere 30 Minuten stehen gelassen. Anschließend wurde am Spektralphotometer die Extinktion bei 498 nm abgelesen.

2.3.5.3. Eichkurve

Zur Erstellung einer Eichkurve für die Proteinbestimmung wurden aus der 100 mg % BSA-Gebrauchslösung verschiedene Konzentrationen hergestellt. Dazu wurden 0, 10, 20, 50, 100 und 200 μ l BSA-Gebrauchslösung jeweils entsprechend ad 200 μ l mit physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt. Nach der Folin-Phenol-Reaktion wurden die Extinktionen der Verschiedenen Eiweißkonzentrationen gemessen (siehe Tabelle 1) und eine Eichkurve erstellt (siehe Abbildung 5). Aus dieser konnte unter Berücksichtigung der Verdünnung der entsprechende Eiweißgehalt der Proben in μ g abgelesen werden.

Tabelle 1 :

BSA-Lösung 100 mg% (μ l)	NaCl-Lösung 0,9 %ig (μ l)	E_1	E_2	$\bar{E}$	Protein (μ g)
10	190	0,033	0,053	0,043	10
20	180	0,090	0,097	0,093	20
50	150	0,210	0,215	0,212	50
100	100	0,398	0,403	0,400	100
150	50	0,567	0,565	0,566	150
200	0	0,731	0,728	0,729	200

Zeichenerklärung: BSA: Rinder-Serum-Albumin.

E_1 und E_2 : Extinktion der Einzelwerte(1) und(2).

$\bar{E}$: Mittelwert der Extinktionen E_1 und E_2 .

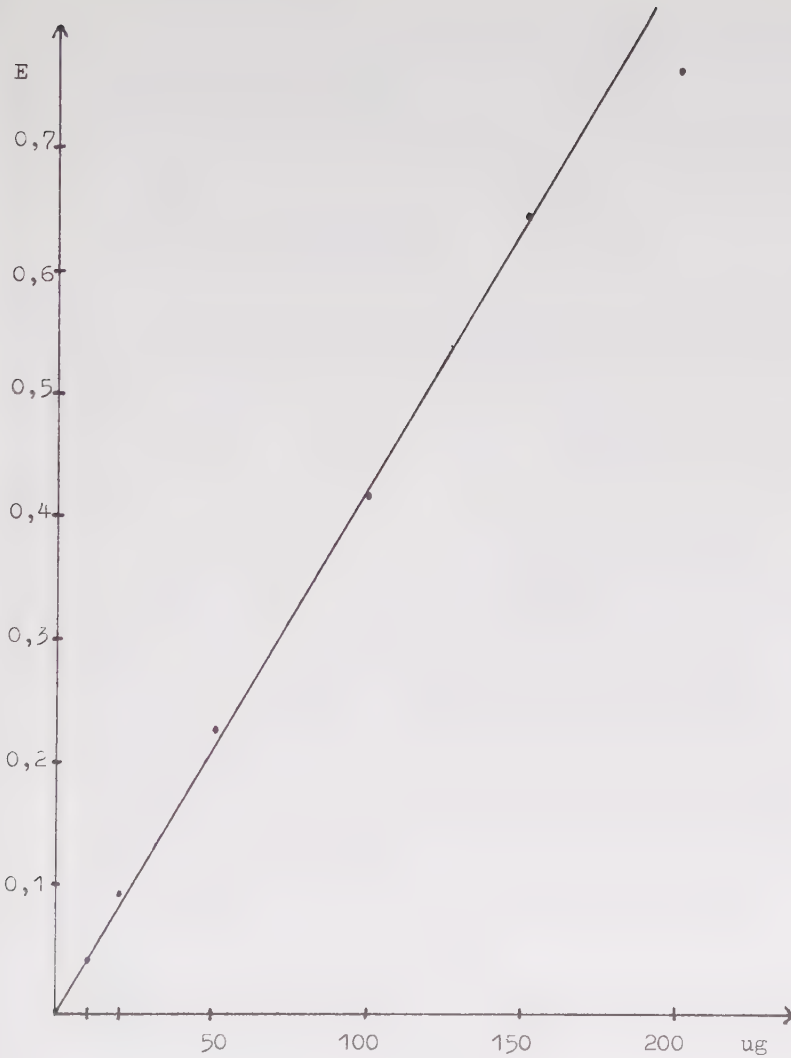


Abbildung 5: Eichkurve zur Eiweißbestimmung nach
Lowry (23)

2.3.6. Bestimmung des Kreatinins im Urin

Die Kreatininkonzentration im Urin wurde im Zentral-labor für Klinische Chemie der Poliklinik der Universität München mit Hilfe eines Autoanalysators bestimmt. Die Methode stellt eine Automatisierung der Jaffe Reaktion (16) dar.

Für die Bestimmung mußten die Urinproben im Verhältnis 1:10 und 1:20 verdünnt werden.

2.3.6.1. Berechnung

Es gilt:

$$\text{Kreatinin (mg/die)} = c \cdot V \cdot \text{HV} \quad (\text{mg/die})$$

Zeichenerklärung:

c : Konzentration (mg/ml)

V : Verdünnung (1:10 bzw. 1:20)

HV : Harnvolumen (ml/die)

3. Ergebnisse

3.1. Wirkung einer Kombination von 100 mg Allopurinol und 20 mg Benzbromaron.

(Labor-Ergebnisse und deren graphische Darstellungen der einzelnen Versuchspersonen, siehe Tabellen 9 - 16 sowie Abbildungen 6 - 20)

3.1.1. Plasmaharnsäure

In der medikamentenfreien Vorperiode stieg unter der Gabe von 2 g Ribonukleinsäure (RNS) pro Tag die Harnsäurekonzentration im Plasma von einem durchschnittlichen Ausgangswert von $4,8 \pm 1,0$ mg/100 ml bei allen Versuchspersonen kontinuierlich an und erreichte gegen Ende der Vorperiode (6. und 7. Versuchstag) ein steady state auf einer Höhe von durchschnittlich $6,9 \pm 1,2$ mg/100ml.

Unter dem Einfluß der Kombination von Allopurinol und Benzbromaron fiel der Harnsäurespiegel im Plasma über sechs Tage kontinuierlich ab. Bei allen Versuchspersonen stellte sich in den letzten beiden Tagen der Versuchsperiode (13. und 14. Tag) ein steady state ein. Die Plasmaharnsäure-Konzentration fiel in diesem Zeitraum durchschnittlich um $2,8 \pm 0,6$ mg/100 ml auf einen Durchschnittswert von $4,2 \pm 1,1$ mg/100ml ab. Das entspricht einem prozentualen Abfall von 40 ± 9 Prozent. (Siehe auch Tabelle 2 und 3, Seite 37 und 38)

3.1.2. Renale Harnsäureausscheidung

In der medikamentenfreien Vorperiode nahm unter der Gabe von 2 g RNS pro Tag die renale Harnsäureausscheidung bei allen Probanden zu. In den letzten beiden Tagen der Vorperiode (6. und 7. Tag) erreichte die tägliche Harnsäureausscheidung im Urin einen Durchschnittswert von 641 ± 73 mg.

Nach der ersten Gabe der zu untersuchenden Kombination stieg die renale Harnsäureausscheidung für einen Tag um ca 17 Prozent über die Harnsäureausscheidung im steady state am Ende der Vorperiode (6./7.Tag) an. Am folgenden Tag war sie bereits wieder unter dem Vorperioden-Endwert abgesunken. Bis zum steady state am Ende der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag) ging die Harnsäureausscheidung im Urin um durchschnittliche 152 ± 88 mg/die ($\pm 24 \pm 14$ Prozent) zurück; bezogen auf die Ausscheidung im steady state am Ende der Vorperiode.

In den letzten beiden Tagen des Versuchs wurden von den acht Versuchspersonen im Durchschnitt täglich 487 ± 102 mg Harnsäure im Urin ausgeschieden. (Siehe Tabelle 2 und 3, Seite 37 und 38).

3.1.3. Renale Oxypurinausscheidung

Die tägliche renale Oxypurinausscheidung in der medikamentenfreien Vorperiode schwankte bei allen Probanden zwischen 8 und 24mg (16 ± 3 mg).

Unter dem Einfluß der Kombination stieg die renale Oxypurinausscheidung an. Die Maximalwerte, die zwischen dem 4. und 5. Tag nach Beginn der Medikation erreicht wurden, lagen bei den einzelnen Versuchspersonen zwischen 120 und 143 mg/die (Durchschnittswert: 130 ± 6 mg/die). Die renale Oxypurinausscheidung ging in den folgenden Tagen wieder leicht zurück. Im steady state am Ende der Versuchsperiode betrug die durchschnittliche renale Oxypurinausscheidung 124 ± 9 mg/die. Die Differenz aus den werten beider steady states zeigt, daß unter dem Einfluß der Kombination die renale Oxypurinausscheidung um durchschnittlich 108 ± 6 mg/die anstieg. (Siehe Tabelle 2 ,Seite 37).

3.1.4. Renale Orotsäureausscheidung

In der Medikamentenfreien Vorperiode ließ sich bei keiner Versuchsperson Orotsäure im Urin nachweisen.

Unter der Gabe der Kombination stieg die renale Orot - säureausscheidung langsam an und erreichte zwischen dem 3. und 5. Versuchstag nach Beginn der Medikation ein Maximum, die Werte lagen zwischen 1,6 und 4,6 mg/die. In den restlichen Versuchstagen ging die renale Orotsäureausscheidung wieder leicht zurück. Am Ende der Versuchsperiode stellte sich bei den meisten Versuchspersonen ein steady state mit einem Durchschnittswert von $2,2 \pm 0,8$ mg/die ein. (Siehe Tabelle 2,Seite 37)

3.1.5. Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten

Die Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) lag bei den acht Versuchspersonen in der medikamentenfreien Vorperiode bei einem Durchschnittswert von $0,150 \pm 0,05$ nMol/mg/h.

Unter dem Einfluß der Kombination nahm die Aktivität der ODC in den Erythrozyten kontinuierlich zu und erreichte gegen Ende der Versuchsperiode einen Durchschnittswert von $0,234 \pm 0,07$ nMol/mg/h. Bei sieben der acht Probanden stellte sich in den letzten Versuchstagen ein steady state ein.

Unter der Wirkung der Kombination war also die Aktivität der ODC in den Erythrozyten um durchschnittlich $0,084 \pm 0,011$ nMol/mg/h angestiegen. (Siehe Tabelle 2,Seite 37)

3.1.6. Renale Kreatininausscheidung

In den medikamentenfreien Vorperioden zeigte die renale Kreatininausscheidung keine auffälligen Schwankungen - Ausnahme war nur eine Versuchsperson, die an wenigen Tagen unter Durchfall litt, hierbei kam es vorübergehend zu einem Rückgang der renalen Kreatininausscheidung.

Die durchschnittliche Kreatininausscheidung im Urin betrug in der Vorperiode 1220 mg/die.

Unter dem Einfluß der Kombination blieben die Schwankungen der renalen Kreatininausscheidung im Normbereich. Die durchschnittliche Ausscheidung betrug 1205 mg/die.

Tabelle 2:

Zusammenstellung der Einzelergebnisse unter der Wirkung von 100 mg Allopurinol und 20 mg Benzbromaron (Kombination)

VP	Abfall der Plasmaharnsäure mg/100ml	Abfall der renalen Harnsäureausscheidung (mg/die)	Aktivitätszunahme der ODC in Erythrozyten (nMol/mg/h)	Anstieg der Oxypurinausscheidung im Urin (mg/die)	Anstieg der Harnsäureausscheidung im Urin (mg/die)
1 m	3,9	119	0,087	37	1,0
2 m	3,4	214	0,140	110	3,8
3 w	2,6	165	0,085	123	3,1
4 w	3,7	188	0,074	116	1,6
5 m	2,0	164	0,051	100	1,6
6 m	2,0	63	0,055	108	1,3
7 m	2,3	88	0,120	107	0,7
8 w	2,3	218	0,090	95	2,6
$\bar{x} \pm SD$	$2,8 \pm 0,6$	152 ± 83	$0,084 \pm 0,011$	108 ± 6	$2,2 \pm 0,8$

Obige Zahlenwerte errechnen sich aus der Differenz der steady states am Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag).

Zeichenerklärung: VP : Versuchsperson
w : weiblich
m : männlich
ODC: Orotidyldecarboxylase
 $\bar{x}$: Durchschnittswerte
SD : Standardabweichung

Tabelle 3:

Einzelergebnisse des Harnsäureabfalles im Plasma und Urin unter der Wirkung der Kombination von 100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron.

(in Prozentangaben)

VP	Abfall der Plasmaharnsäure (in Prozent)	Abfall der renalen Harnsäureausscheidung (in Prozent)
1 m	51	18
2 m	37	29
3 w	39	36
4 w	51	25
5 m	26	23
6 m	28	10
7 m	46	16
8 w	42	34
$\bar{x} \pm SD$	40 ± 9	24 ± 13

Obige Zahlenwerte errechnen sich aus der Differenz der steady states am der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag).

Zeichenerklärung: VP: Versuchsperson

w: weiblich

m: männlich

$\bar{x}$: Durchschnittswert

SD: Standardabweichung

3.2. Wirkung von 100 mg Allopurinol

Labor-Ergebnisse der einzelnen Probanden und graphische Darstellungen siehe Abbildungen 21 - 31 und Tabellen 17 - 22)

3.2.1. Plasmaharnsäure

In der medikamentenfreien Vorperiode stieg unter der Gabe von 2 g RNS pro Tag die Harnsäurekonzentration im Plasma von einem durchschnittlichen Ausgangswert von $4,9 \pm 0,9$ mg/100ml kontinuierlich an und erreichte gegen Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) ein steady state auf einer durchschnittlichen Höhe von $6,8 \pm 0,8$ mg/100ml.

Unter dem Einfluß von 100 mg Allopurinol/die fiel innerhalb sechs Tagen die Konzentration der Harnsäure im Plasma kontinuierlich bis zu einem steady state am Ende der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag) ab.

Die Konzentration der Plasma-Harnsäure war in diesem Zeitraum um durchschnittlich $1,7 \pm 0,8$ mg/100ml auf einen Durchschnittswert von $5,1 \pm 0,9$ mg/100ml abgesunken. Das entspricht einem durchschnittlichen prozentualen Abfall von 25 ± 8 Prozent. (Siehe Tabelle 4 und 5 auf Seite 42 und 43)

3.2.2. Renale Harnsäureausscheidung

In der Vorperiode nahm unter der Gabe von 2 g RNS pro Tag die renale Harnsäureausscheidung bei allen Probanden zu. In den letzten beiden Tagen der Vorperiode erreichte die tägliche Harnsäureausscheidung im Urin einen Durchschnittswert von 635 ± 75 mg.

Unter dem Einfluß von 100 mg Allopurinol/die kam es vom ersten Tag an zu einem Absinken der Harnsäureausscheidung im Urin. Bis zum Ende der Versuchsperiode ging die Aus-

scheidung um durchschnittlich 210 ± 51 mg/die ($\pm 33 \pm 8$ Prozent) zurück.

In den letzten beiden Versuchstagen wurden von den sechs Versuchspersonen im Durchschnitt täglich 425 ± 82 mg Harnsäure im Urin ausgeschieden. (Siehe Tabellen 4 und 5, Seite 42 und 43)

3.2.3. Renale Oxypurinausscheidung

In der medikamentenfreien Vorperiode lag die tägliche Oxypurinausscheidung bei den einzelnen Versuchsteilnehmern zwischen 10 und 25 mg (Durchschnittswert 16 ± 5 mg).

Unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol/die stieg die renale Oxypurinausscheidung an. Gegen Ende der Versuchsperiode stellte sich bei allen Probanden ein steady state ein. Bei den einzelnen Versuchspersonen lagen die entsprechenden Werte zwischen 101 und 128 mg/die (Durchschnittswert: 113 ± 5 mg/die)

Die Differenz aus den Werten beider steady states zeigt, daß unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol pro Tag die renale Oxypurinausscheidung um durchschnittlich 97 ± 5 mg/die anstieg. (Siehe Tabelle 4, Seite 42)

3.2.4. Renale Orotsäureausscheidung

In der medikamentenfreien Vorperiode ließ sich nur bei einer Versuchsperson an zwei Tagen Orotsäure im Urin nachweisen (die Werte betrugen 0,6 und 0,9mg/die).

Unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol/die stieg die renale Orotsäureausscheidung an und erreichte zwischen dem 4. und 6. Versuchstag nach Beginn der Medikation

Maximalwerte zwischen 2,3 und 9,3 mg/die. In den restlichen Versuchstagen ging die renale Orotsäureausscheidung bis zu einem steady state wieder leicht zurück. Die Werte waren zwischen 1,6 und 5,7 mg/die ; Durchschnittswert: $3,3 \pm 0,8$ mg/die. (Siehe Tabelle 4, Seite 42)

3.2.5. Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in Erythrozyten

In der medikamentenfreien Vorperiode schwankte die Aktivität der ODC bei den sechs Versuchspersonen um einen Durchschnittswert von $0,11 \pm 0,01$ nMol/mg/h.

Unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol/die nahm die Aktivität der ODC in den Erythrozyten zu. Gegen Ende der Versuchsperiode stellte sich bei allen Probanden ein steady state mit einem Durchschnittswert von $0,18 \pm 0,03$ nMol/mg/h ein.

Unter der Wirkung von 100mg Allopurinol/die war die Aktivität der Orotidyldecarboxylase in den Erythrozyten um durchschnittlich $0,072 \pm 0,003$ nMol/mg/h angestiegen. (Siehe Tabelle 4, Seite 42)

3.2.6. Renale Kreatininausscheidung

In der medikamentenfreien Vorperiode zeigte die renale Kreatininausscheidung bei keiner Versuchsperson auffällige Schwankungen; die durchschnittliche Ausscheidung betrug 1288mg/die.

Unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol blieb die renale Kreatininausscheidung ebenfalls in der Normgrenze. Die durchschnittliche Ausscheidung betrug 1297mg/die.

Tabelle 4:

Zusammenstellung der Einzelergebnisse unter der Wirkung von
100mg Allopurinol. (in Absolutwerten)

VP	Abfall der Plasmaharn- säure (mg/100ml)	Abfall der renalen Harnsäureaus- scheidung (mg/die)	Aktivitäts- zunahme der ODC in Ery- throzyten (nMol/mg/h)	Anstieg der Oxypurinaus- scheidung im Urin (mg/die)	Anstieg der Orotsäure ausscheidung im Urin (mg/die)
3 w	1,7	296	- -	- -	- -
6 m	0,9	183	0,072	112	5,7
7 m	2,0	218	0,080	108	3,1
8 w	2,3	182	0,097	88	3,7
10 m	1,0	155	0,042	94	1,8
11 m	1,9	226	0,070	85	1,6
$\bar{x} \pm \text{SD}$	$1,6 \pm 0,1$	210 ± 15	$0,072 \pm 0,003$	97 ± 5	$3,3 \pm 0,8$

Obige Zahlenwerte ergeben sich aus der Differenz der steady states
am Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Ver-
suchsperiode (13./14. Versuchstag).

Zeichenerklärung: VP : Versuchsperson

w: weiblich

m: männlich

ODC: Orotidyldecarboxylase

x: Durchschnittswert

SD: Standardabweichung

Tabelle 5:

Einzelergebnisse des Harnsäureabfalles im Plasma und
Urin unter der Wirkung von 100 mg Allopurinol.
(in Prozentangaben)

VP	Abfall der Plasmaharnsäure (in Prozent)	Abfall der renalen Harnsäureausscheidung (in Prozent)
5 w	28	48
6 m	11	27
7 m	34	32
8 w	30	33
10 m	13	27
11 m	28	33
$\bar{x} \pm SD$	24 ± 8	33 ± 8

Obige Werte errechnen sich aus der Differenz der Zahlenwerte im steady state am Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag).

Zeichenerklärung: VP : Versuchsperson
w : weiblich
m : männlich
x : Durchschnittswert
SD : Standardabweichung

Tabelle 6:

In der nachfolgenden Tabelle werden die Einzelergebnisse (in Absolutwerten) der Versuchspersonen gegenübergestellt, an denen sowohl die Kombination (100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron) und die Monosubstanz 100mg Allopurinol getestet wurden.

VP	Abfall der Plasmaharnsäure (mg/100ml)		Abfall der renalen Harnsäureausscheidung (mg/die)		Aktivitätszunahme der ODC in Erythrozyten (nMol/mg/h)		Anstieg der Oxypurinausscheidung im Urin (mg/die)		Anstieg der Orotsäureausscheidung im Urin (mg/die)	
	Kombi- nation	100mg Allo.	Kombi- nation	100mg Allo.	Kombi- nation	100mg Allo.	Kombi- nation	100mg Allo.	Kombi- nation	100mg Allo.
3 w	2,6	1,7	165	269	- -	- -	- -	- -	- -	- -
5 m	2,0	0,9	63	183	0,055	0,072	108	112	1,3	5,7
7 m	2,3	2,0	88	182	0,120	0,080	107	108	0,7	3,1
8 w	2,3	2,3	218	226	0,090	0,097	95	88	2,6	3,7
$\bar{x}$	2,3	1,7	133	220	0,088	0,083	103	102	1,5	4,2

Obige Zahlenwerte berechnen sich aus der Differenz der steady states am Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Versuchsperiode (13./14. Versuchstag).

Zeichenerklärung : VP: Versuchsperson

w: weiblich

m: männlich

ODC: Orotidyldecarboxylase

Kombination: 100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron

Allo.: Allopurinol

$\bar{x}$: Durchschnittswert

Tabelle 7:

Vergleichende Gegenüberstellung der Einzelergebnisse des Harnsäureabfalles im Plasma und Urin unter der Wirkung der Kombination (100mg Allopurinol plus 20 mg Benzbromaron) und von 100mg Allopurinol als Monosubstanz. (in Prozentangaben)

VP	Abfall der Plasmaharnsäure (in Prozent)		Abfall der renalen Harnsäureausscheidung (in Prozent)	
	Kombi- nation	100mg Ap	Kombi- nation	100mg Ap
3 w	39	28	36	48
6 m	28	11	10	27
7 m	46	34	16	32
8 w	42	30	34	33
$\bar{x}$	39	26	24	35

Obige Werte errechnen sich aus der Differenz aus der Zahlenwerte im steady state am Ende der Vorperiode (6./7. Versuchstag) und am Schluß der Versuchsperiode (13./14.Versuchstag).

Zeichenerklärung: VP: Versuchsperson

w: weiblich, m: männlich

Kombination: 100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron

Ap: Allopurinol

$\bar{x}$: Durchschnittswert

4. Diskussion

Aufgabe dieser Arbeit war es den Einfluß der Kombination (=100mg Allopurinol und 20mg Benzbromaron) und den von 100mg Allopurinol auf das Verhalten der Harnsäure im Plasma und Urin, das Verhalten der Oxypurine und Orotsäure im Urin und die Aktivität der Orotidyl-decarboxylase in den Erythrozyten aufzuzeigen.

Um einen experimentell kontrollierten Harnsäureanstieg im Plasma zu gewährleisten, erhielt jede Versuchsperson während der drei Versuchsperioden nebst einer purinfreien, isoenergetischen Formeldiät täglich 2g RNS (Ribonukleinsäure), die einer durchschnittlichen purinreichen Ernährung entsprechen. Die oben erwähnte Formeldiät (siehe 2.2.2.) sollte eine unkontrollierte exogene Purinzufuhr verhindern. Desweiteren ließ sich mit ihr relativ einfach die benötigte Energie berechnen.

Die Diät durfte mit Zusätzen wie Zimt, Vanille, Kaffee und Tee geschmacklich verändert werden.

Die Länge der Versuchsperioden war aufgrund der jeweils erreichten steady states ausreichend.

In der nachfolgenden Diskussion werden folgende Ergebnisse berücksichtigt: die Wirkung der Kombination (=100 mg Allopurinol plus 20 mg Benzbromaron), sowie die Wirkung von 100 mg Allopurinol und 20 mg Benzbromaron als Monosubstanzen. Die entsprechenden Werte für 20 mg Benzbromaron sind der Dissertation von L. Wecker (36) entnommen, die im Rahmen des gleichen Versuchs entstand.

4.1. Plasma-Harnsäure

Unter der Gabe von 2 g Ribonukleinsäure (RNS) pro Tag kam es in allen Vorperioden zu einem von Berliener et al. (2) bereits beschriebenen Anstieg der Harnsäurekonzentration im Plasma und Urin. Dieser Anstieg ist dadurch bedingt, daß bei der Verstoffwechslung der RNS u.a. der Metabolit Harnsäure entsteht (17).

Die vergleichende Gegenüberstellung der Ergebnisse auf Tabelle 6 und 7 zeigt eine Senkung der Harnsäurekonzentration im Plasma unter der Wirkung der Kombination um 39 % (2,3 mg/100ml) und unter 100mg Allopurinol um 24 % (1,7 mg/100ml).

Die Kombination hat also eine um 13 % (0,6 mg/100ml) stärkere harnsäuresenkende Wirkung im Plasma als 100 mg Allopurinol als Monosubstanz.

Aus der Dissertation von L. Wecker (36) übernehme ich den Zahlenwert für die harnsäuresenkende Wirkung von 20 mg Benzbromaron als Monosubstanz. Danach senken 20 mg Benzbromaron unter den gleichen Versuchsbedingungen die Plasmaharnsäurekonzentration um 33% (2,0 mg/100ml).

Die obigen Zahlenwerte zeigen, daß 20 mg Benzbromaron die Konzentration der Harnsäure im Plasma stärker senken als 100 mg Allopurinol.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage wie stark die beiden Substanzen in der Kombination ihre Wirkung gegenseitig mindern, da aufgrund der bekannten Wirkmechanismen von Allopurinol und Benzbromaron (siehe auch 1.1.2.1. und 1.1.2.2.) eine gegenseitige Beeinflussung stattfindet (7, 28). Desweiteren interessiert die Frage mit welchem Prozentsatz Allopurinol und Benzbromaron an der Gesamtwirkung der Kombination beteiligt waren.

Zur Klärung der ersten Frage addiert man die Werte der harnsäuresenkenden Wirkungen der Monosubstanzen: 24 % (Allopurinol) + 33 % (Benzbromaron) = 57 % und vergleicht sie mit der Wirkung der Kombination = 39 %. Der Vergleich zeigt, daß sich hierbei ein Wirkungsverlust der Monosubstanzen in der Kombination von zusammen 18 % ergibt.

Die oben gestellte zweite Frage nach dem jeweiligen Wirkungsverlust von Allopurinol bzw. Benzbromaron in der Kombination läßt sich klären durch einen Vergleich der renalen Harnsäureausscheidungen unter dem Einfluß der drei Medikationen: Die Kombination senkt die renale Harnsäureausscheidung um 24%, 100 mg Allopurinol um 35% und 20 mg Benzbromaron läßt sie unverändert bzw. teilweise leicht ansteigen (36).

Die obigen Zahlenwerte zeigen, daß unter dem Einfluß der Kombination die Harnsäureausscheidung im Urin nur annähernd 70% der Ausscheidung unter dem Einfluß von 100 mg Allopurinol als Monosubstanz erreichte.

Da Benzbromaron die renale Harnsäureausscheidung also nicht senkt, muß der diesbezügliche harnsäuresenkende Effekt unter der Kombination ausschließlich von Allopurinol stammen.

Das würde letztendlich bedeuten, daß von der Kombinationswirkung ca 70% durch die 100 mg Allopurinol und ca 30 % durch die 20 mg Benzbromaron bedingt sind.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß von den oben erwähnten Medikationen die Kombination die stärkste harnsäuresenkende Wirkung zeigte. Desweiteren, daß in der Kombination die Wirkung der Monosubstanzen zusammen um annähernd ein fünftel verringert ist und Benzbromaron in seiner Wirkung durch Allopurinol stärker behindert wird als umgekehrt.

4.2. Renale Harnsäureausscheidung

Die renale Harnsäureausscheidung stieg am ersten Tag unter der Wirkung der Kombination im Durchschnitt um 21 % an, ehe sie an den folgenden Tagen bis zum steady state am Ende der Versuchsperiode abfiel.

Ein kurzfristiger Anstieg der renalen Harnsäureausscheidung unter dem Einfluß einer Kombination aus Allopurinol und Benzbromaronum wurde bereits von Matzkis (25) und Mertz (28) berichtet. Diese Beobachtung läßt sich durch die unterschiedliche Wirkungsweise von Allopurinol und Benzbromaronum erklären. Allopurinol beeinflusst im Gegensatz zu Benzbromaronum nicht die bereits gebildete Harnsäure (1); diese wurde unter dem Einfluß von Benzbromaronum verstärkt renal ausgeschieden. Der Anstieg der renalen Harnsäureausscheidung war aber am darauffolgenden Tag schon wieder rückläufig, da der urikostatische Einfluß von Allopurinol verstärkt zur Wirkung kam (v.a. Hemmung der Xanthinoxidase (33)) und damit dem urikosurisch wirkenden Benzbromaronum teilweise das Substrat entzogen wurde (28).

Es folgte ein Rückgang der renalen Harnsäureausscheidung bis sich ein Gleichgewicht der Wirkungen dieser beiden Substanzen im steady state am Ende der Versuchsperiode eingestellt hatte.

Unter dem Einfluß der Kombination ging die renale Harnsäureausscheidung um ca 30% weniger stark zurück als unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol, die Ursache ist auf die bereits erwähnte Wirkminderung von Allopurinol bei gleichzeitiger Gabe von Benzbromaronum zurückzuführen (7).

4.3. Oxypurine

Die tägliche Oxypurinausscheidung im Urin lag in den medikamentenfreien Phasen bei allen Versuchspersonen und Versuchsperioden bei durchschnittlich 16mg/die.

Nach Beginn der Medikation kam es sowohl unter dem Einfluß der Kombination wie unter 100mg Allopurinol zu einem Anstieg der Oxypurinausscheidung im Urin. Ursache ist die Hemmung der Xanthinoxidase durch Allopurinol (33). Durch diese Hemmung werden Hypoxanthin und Xanthin nicht mehr zu Harnsäure abgebaut, sondern vermehrt im Urin ausgeschieden.

Wie aus der Tabelle auf Seite 44 zu entnehmen ist, besteht in der Wirkung auf die renale Oxypurinausscheidung zwischen der Kombination und 100mg Allopurinol kein verwertbarer Unterschied.

Der fehlende Unterschied in der Oxypurinolausscheidung läßt sich zum einen erklären durch eine Beobachtung von Elion (7) und Chalmers (4), wonach Oxipurinol (Hauptmetabolit des Allopurinols) die Xanthinoxidase weniger stark hemmen soll als Allopurinol. Desweiteren sollen Urikosurika Oxipurinol, aber nicht Allopurinol vermehrt renal ausscheiden. D.h., Oxipurinol wird zwar durch Benzbromaron vermehrt ausgeschieden, aber aufgrund seiner geringeren Wirkung auf die Xanthinoxidase ist der Abfall seiner Wirkung nicht proportional zu der renal ausgeschiedenen Menge.

Zudem muß noch eine geringere Genauigkeit der Bestimmungsmethode in Rechnung gestellt werden.

Der Anstieg der Oxypurinausscheidung konnte den Rückgang der renalen Harnsäureausscheidung nicht ganz ausgleichen (Siehe Abbildungen und Tabellen ab Seite 56). Dies ist mit einer Hemmung der de-novo-Purinsynthese vereinbar (3,13).

4.4. Orotsäure

Bei unseren Versuchspersonen blieb die Orotsäureausscheidung im Urin in den medikamentenfreien Phasen aller Versuchsperioden unter der Nachweisgrenze. Dieser Befund läßt sich zu einem Teil durch die von Zöllner und Gröbner (44) bereits nachgewiesene orotaziduriesenkende Wirkung von Ribonukleotiden (RNS) erklären, zum anderen Teil durch die geringe Genauigkeit der Bestimmungsmethode im unteren Nachweisbereich.

Unter dem Einfluß der Kombination wie unter 100mg Allopurinol ließ sich Orotsäure im Urin nachweisen. Die Zunahme der renalen Orotsäureausscheidung ist auf Allopurinol und seinen Hauptmetaboliten Oxipurinol zurückzuführen (19). Sie hemmen die Orotidyldecarboxylase (ODC) wodurch die Umwandlung von Orotidin-5-monophosphat zu Uridin-5-monophosphat gehemmt wird. Infolgedessen kommt es zu einem Anstieg der Uridin-Vorstufen u.a. der Orotsäure, die dann renal vermehrt ausgeschieden werden (19).

Wie aus den Vergleichsergebnissen auf Seite 44 zu ersehen ist, wird unter dem Einfluß der Kombination weniger Orotsäure im Urin ausgeschieden als unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol.

Die geringere renale Orotsäureausscheidung unter der Wirkung der Kombination läßt sich durch eine verminderte Allopurinol- bzw. Oxipurinol-Wirkung bei gleichzeitiger Gabe einer urikosurischwirkenden Substanz wie Benzbromaron erklären (7).

4.5. Orotidyldecarboxylase (ODC)

Unter der Wirkung der Kombination und der von 100mg Allopurinol kam es zu einem Anstieg der Aktivität der Orotidyldecarboxylase (ODC) in den Erythrozyten. Der Anstieg war bedingt durch die hemmende Wirkung von Allopurinol auf die ODC (19).

Unter dem Einfluß der Kombination zeigte die ODC eine geringere Aktivität als unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol. Dieser Befund ist wiederum auf die verminderte Wirkung von Allopurinol in der Kombination mit einem Urikosurikum zurückzuführen (7). Benzbromaron hat keinen direkten Einfluß auf die ODC (36).

4.6. Kreatinin

Die Kreatininausscheidung war mit Ausnahme der Tage, an denen Probanden unter Durchfall litten, immer im Normbereich (35).

Die Ergebnisse zeigen, daß die verwendeten Medikamente keinen Einfluß auf die Kreatininausscheidung hatten.

5.

Zusammenfassung

An acht gesunden Versuchspersonen, die in zwei Vierer-Gruppen zusammengefaßt waren, wurden in drei jeweils 14 Tage dauernden Versuchsperioden die harnsäuresenkende Wirkung folgender Substanzen getestet: 100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaronum ($\hat{=}$ Kombination), sowie 100mg Allopurinol als Monosubstanz.

Die Probanden erhielten während der Versuchsperioden eine purinfreie Formeldiät und täglich 2g Ribonukleinsäure (RNS).

Unter der Kombination sank die Serumharnsäurekonzentration um 13 Prozent stärker ab als unter der Gabe von 100 mg Allopurinol.

100mg Allopurinol ließ andererseits die renale Harnsäureausscheidung stärker absinken als die Kombination.

In bezug auf die Oxypurinausscheidung im Urin ließ sich zwischen den beiden Medikationen kein auffälliger Unterschied nachweisen.

Die Monosubstanz 100mg Allopurinol ließ die renale Orotsäureausscheidung stärker ansteigen als die Kombination.

Die Aktivität des Enzyms Orotidyldecarboxylase war bei zwei Probanden unter dem Einfluß von 100mg Allopurinol höher, bei einer weiteren Versuchsperson unter der Kombination.

Schlußfolgerung: Die Kombination hat eine stärkere harnsäuresenkende Wirkung als 100mg Allopurinol.

Tabelle 8 :

Daten der Versuchsteilnehmer

Nummer d. Versuchs- personen	Name der Versuchs- personen	Geschlecht w=weibl. m=männl.	Alter	Körper- größe (in cm)	Körper- gewicht (in kg)	Körper- ober- fläche	Grundum- satz kcal/h/m ²	Arbeitsum- satz kcal/die
1	J.R.	m	24	181	70,5	1,89	38,7	2810
2	P.Z.	m	26	185	62,0	1,82	38,2	2670
3	B.L.	w	29	158	44,5	1,42	35,0	1910
4	I.H.	w	28	170	59,5	1,69	35,0	2270
5	H.K.	m	24	176	74,5	1,88	35,1	2530
6	E.C.	m	23	180	65,5	1,85	38,2	2710
7	L.W.	m	28	175	67,0	1,80	37,8	2610
8	J.K.	w	25	158	47,0	1,48	35,1	1990

Fortsetzung der Tabelle 8 :

Daten der Versuchsteilnehmer, die am Ergänzungsversuch teilnahmen

Nummer d. Versuchspersonen	Name der Versuchsperson	Geschlecht w=weibl. m=männl.,	Alter	Körpergröße (in cm)	Körpergewicht (in kg)	Körperoberfläche (m ²)	Grundumsatz kcal/h/m ²	Arbeitsumsatz kcal/die
9	C.K.	w	24	167	44,0	1,47	35,1	1980
10	G.W.	m	25	171	69,0	1,81	38,4	2640
11	T.S.	m	27	179	71,5	1,89	38,0	2760

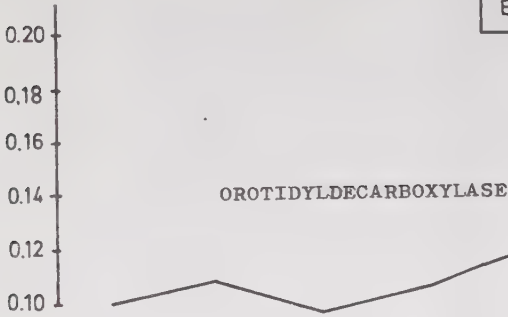
PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (1)

ALLOPURINOL 100mg/die

BENZBROMARON 20mg/die

nMol / mg/h



mg / 100 ml



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

mg / die

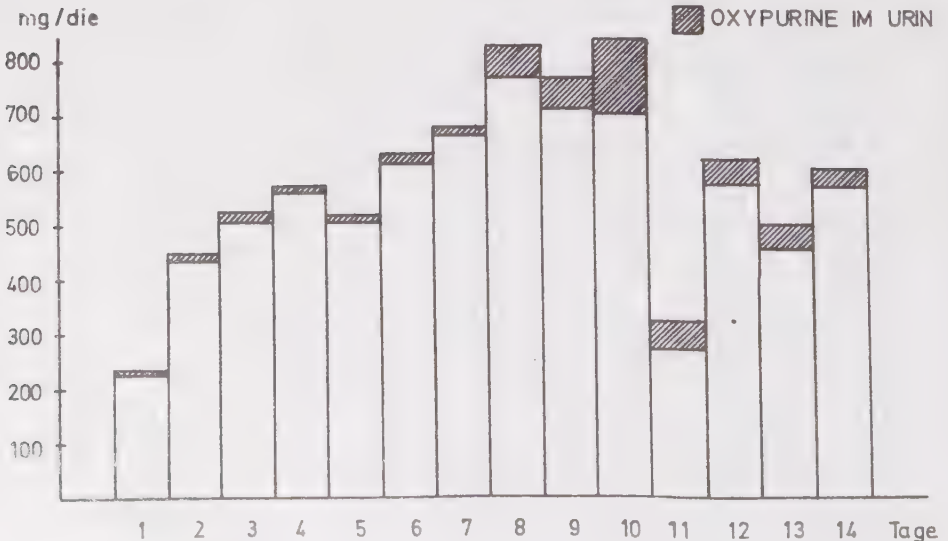


Abbildung: 6

VP: Versuchsperson

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS /die

VP: (1)

ALLOPURINOL 100 mg /dje

BENZBROMARON 20 mg /die

mg / 100 ml



mg /die

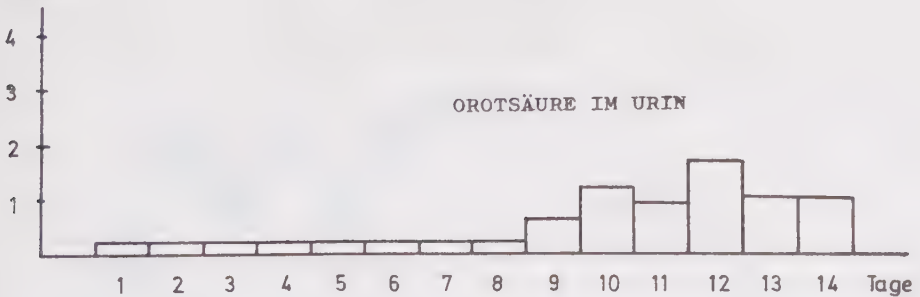


Abbildung 7:

VP: Versuchsperson

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (2)

ALLOPURINOL 100 mg/die

BENZBROMARON 20mg/die

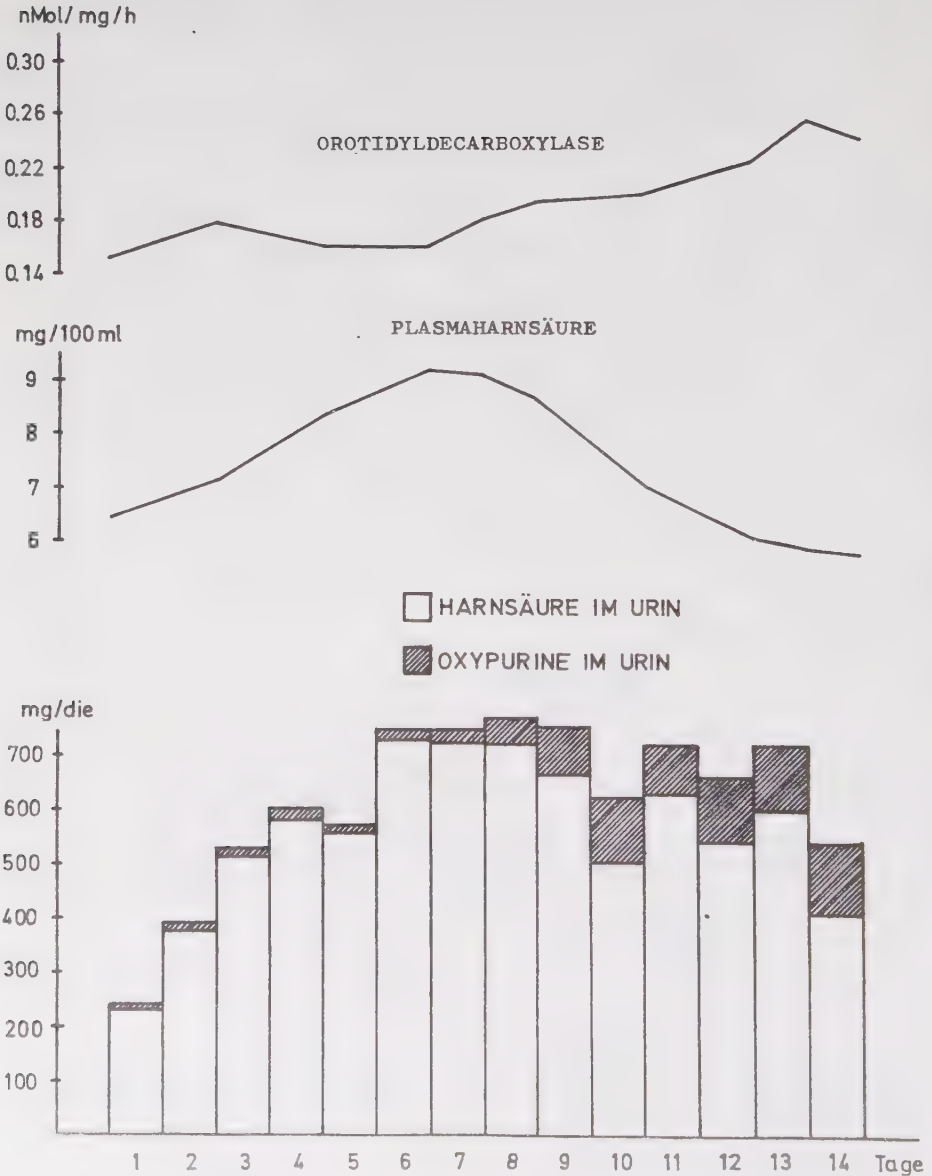


Abbildung: 8

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die	
VP: (2)	ALLOPURINOL 100mg/die
	BENZBROMARON 20 mg/die

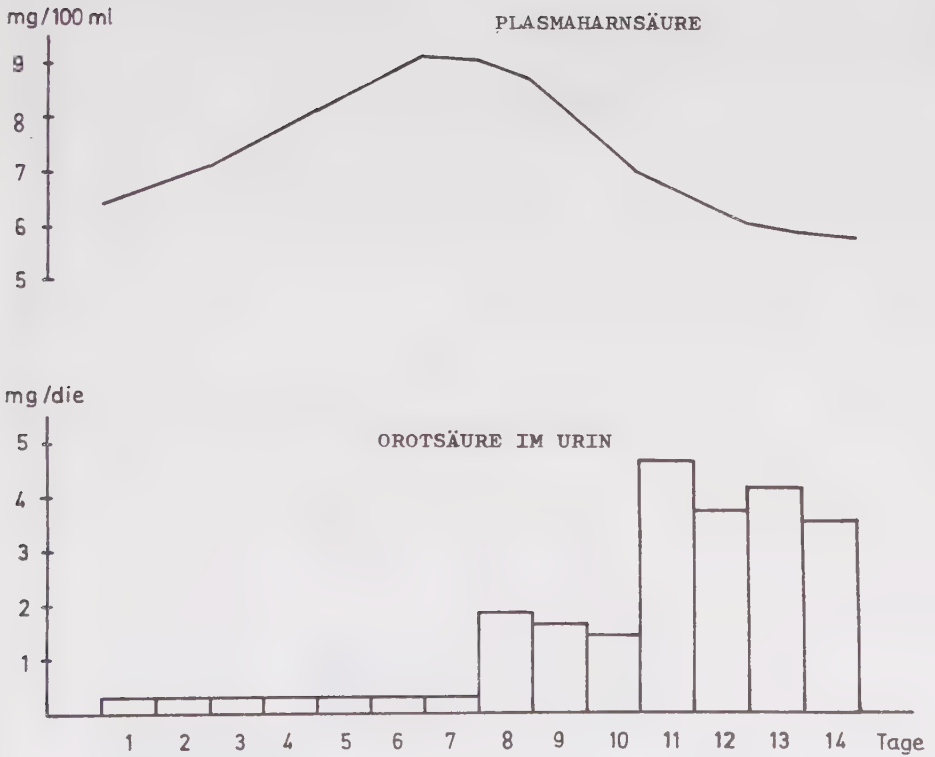


Abbildung: 9

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS /die

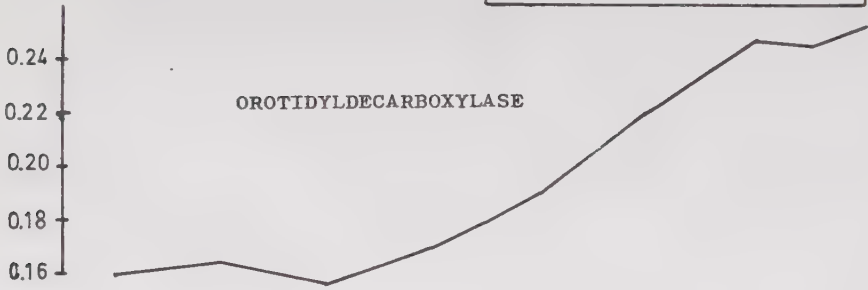
VP: (3)

ALLOPURINOL 100 mg /die

BENZBROMARON 20 mg /die

nMol /mg /h

OROTIDYLDECARBOXYLASE



mg /100 ml

PLASMAHARNSÄURE



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

mg /die

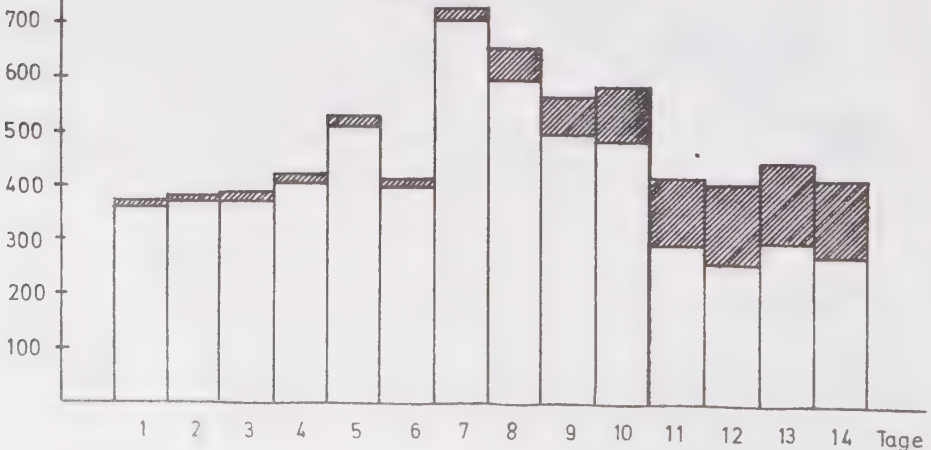


Abbildung 9:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS /die

VP: (3)

ALLOPURINOL 100 mg /die

BENZBROMARON 20 mg /die



Abbildung 10:

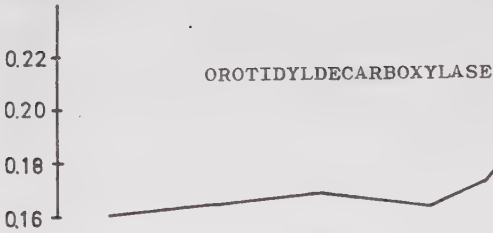
PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (4)

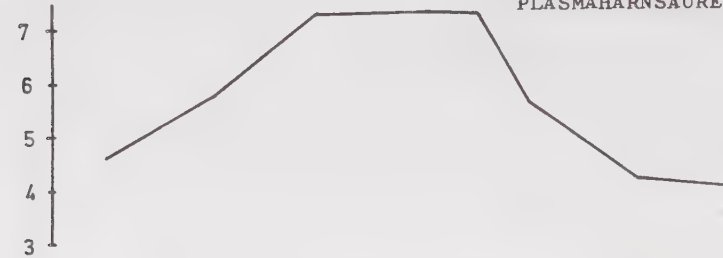
ALLOPURINOL 100mg / die

BENZBROMARON 20mg / die

nMol / mg / h



mg / 100 ml



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

mg/die

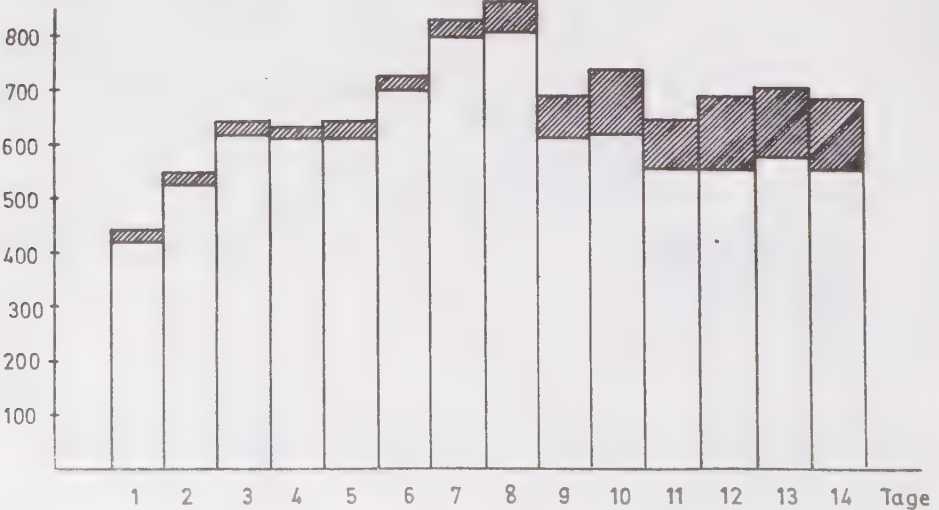


Abbildung 11:

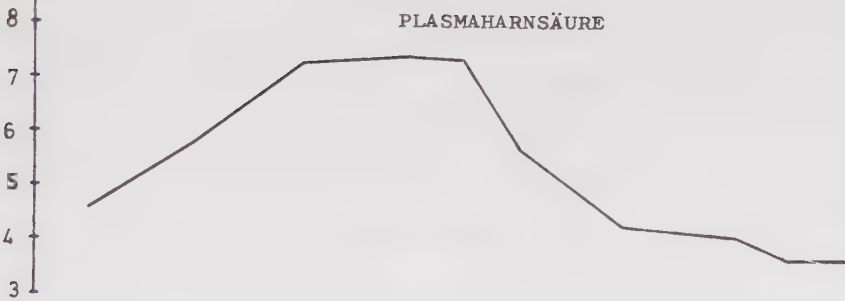
PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (4)

ALLOPURINOL 100 mg / die

BENZBROMARON 20 mg/die

mg/100 ml



mg/die

OROTSÄURE IM URIN

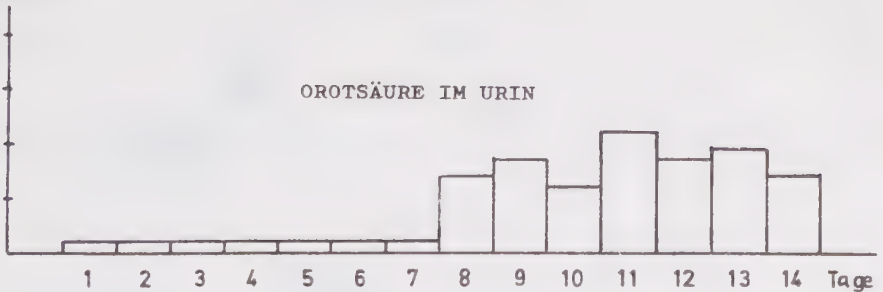


Abbildung 12:

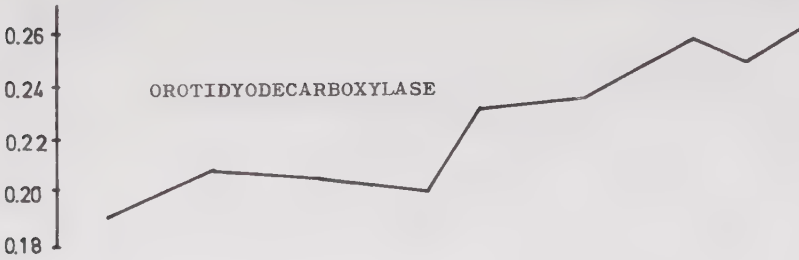
PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS/die

VP: (5)

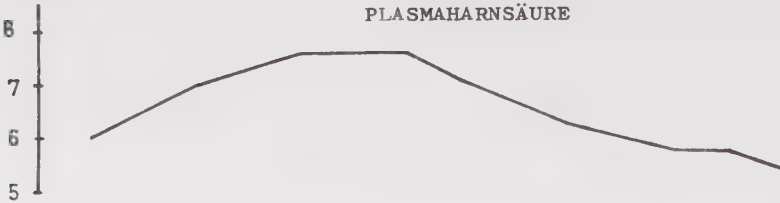
ALLOPURINOL 100 mg/die

BENZBROMARON 20 mg/die

nMol/mg/h



mg/100 ml



□ HARNSÄURE IM URIN

□ OXYPURINE IM URIN

mg/die

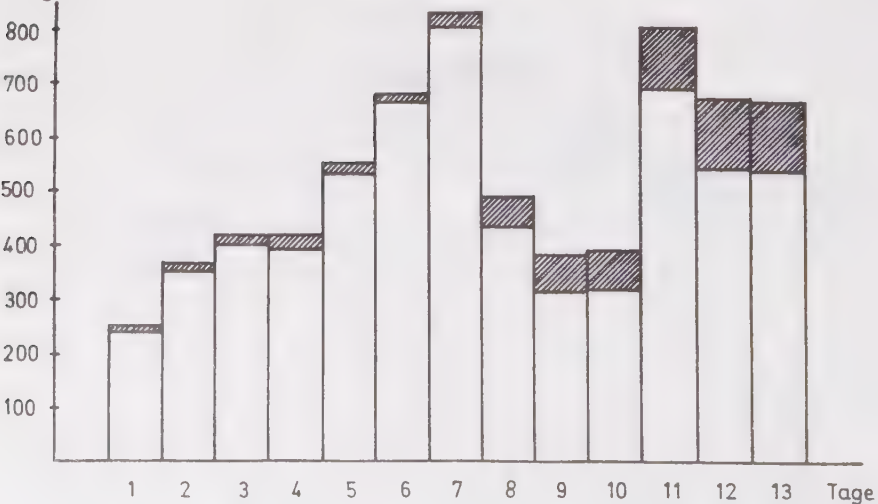


Abbildung 13:

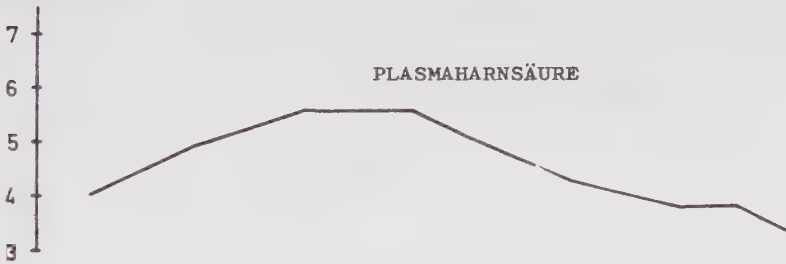
PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (5)

ALLOPURINOL 100 mg / die

BENZBROMARON 20 mg / die

mg / 100 ml



mg / die

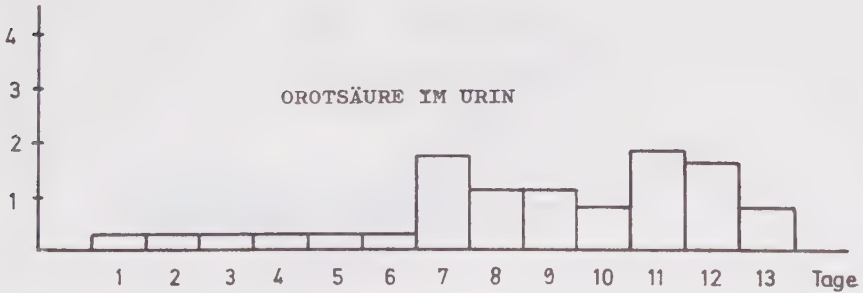


Abbildung 14:

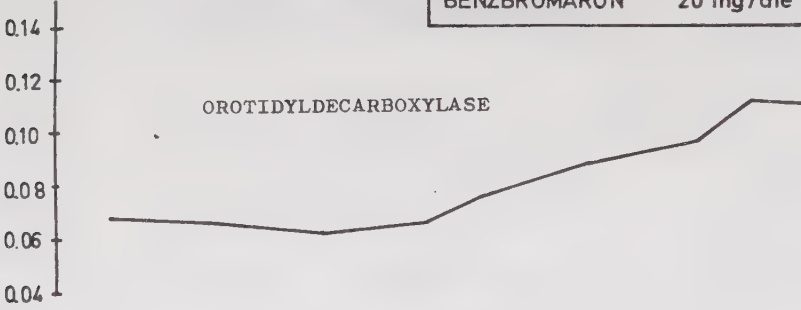
PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (6)

ALLOPURINOL 100 mg / die

BENZBROMARON 20 mg / die

nMol / mg / h



mg / 100 ml



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

mg / die

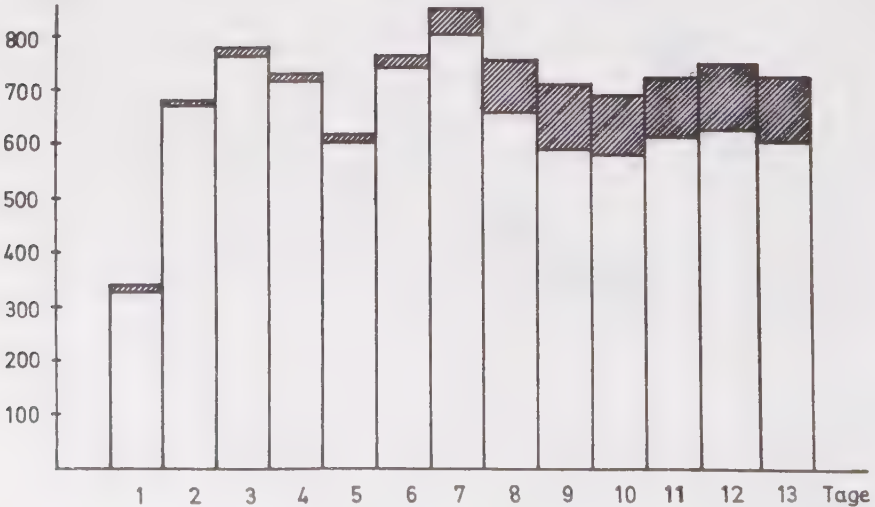


Abbildung 15:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (6)

ALLOPURINOL 100 mg / die

BENZBROMARON 20 mg / die

mg / 100 ml

PLASMAHARNSÄURE



mg / die

OROTSÄURE IM URIN

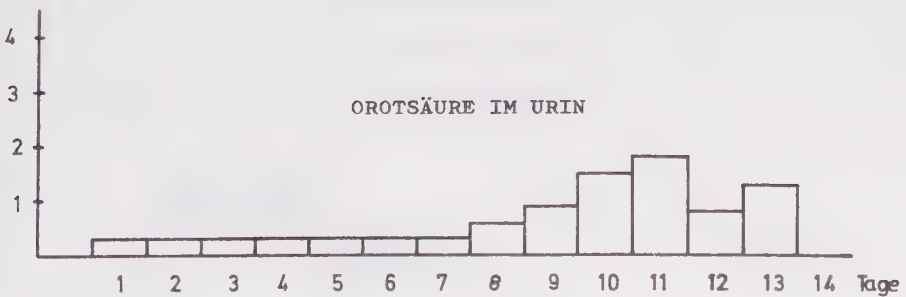


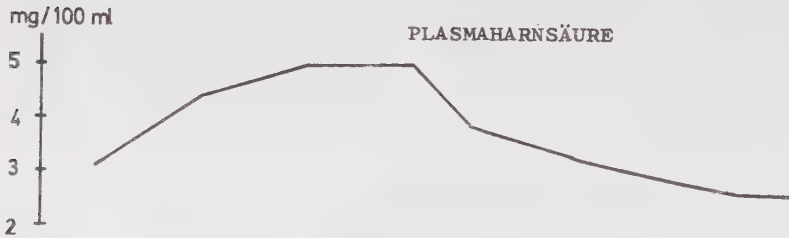
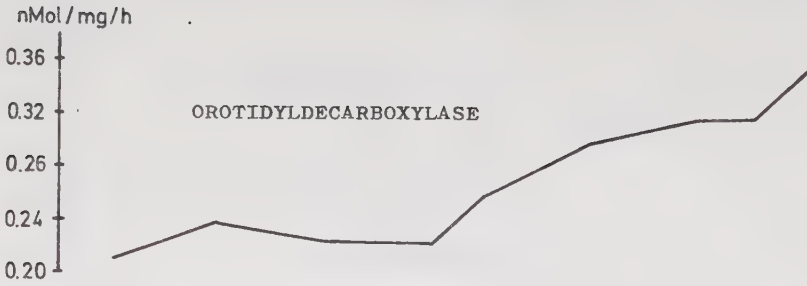
Abbildung 16:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS/die

VP: (7)

ALLOPURINOL 100 mg/die

BENZBROMARON 20 mg/die



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

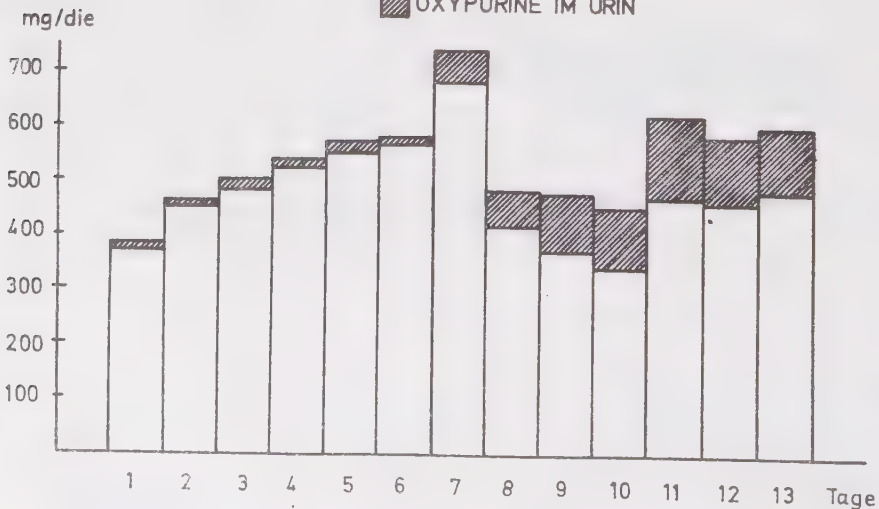


Abbildung 17:

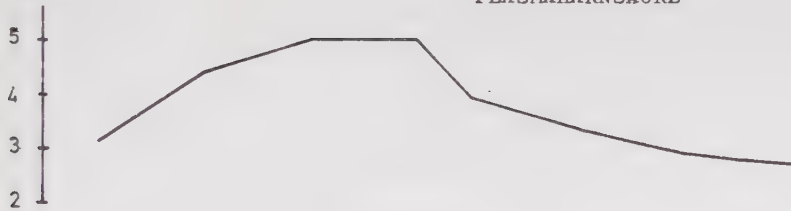
PURINFREIE DIÄT + 2g RNS /die

VP: (7)

ALLOPURINOL 100 mg /die

BENZBROMARON 20 mg/die

mg / 100 ml



mg / die

OROTSÄURE IM URIN

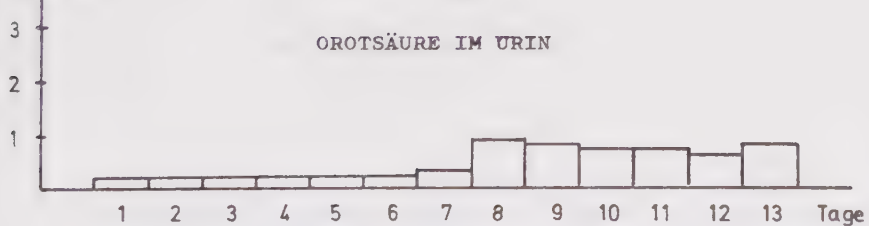


Abbildung 18:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (8)

ALLOPURINOL 100 mg /die

BENZBROMARON 20 mg /die

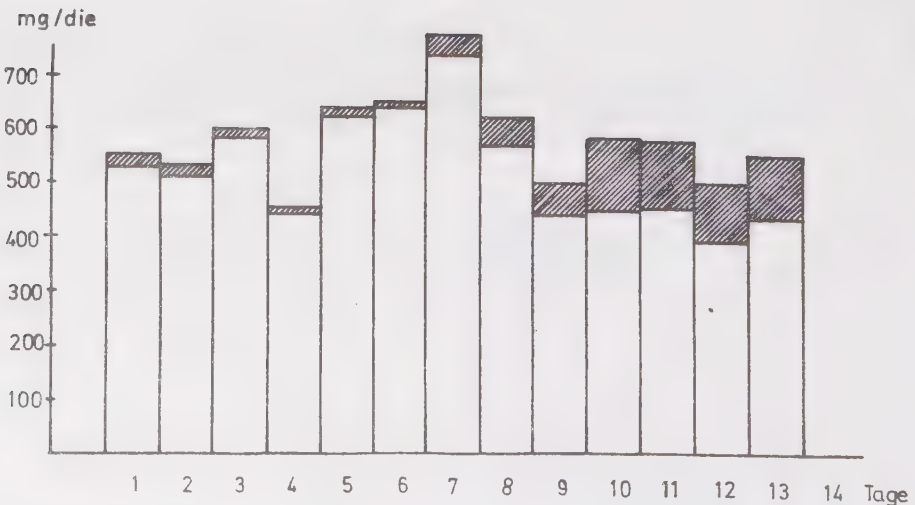
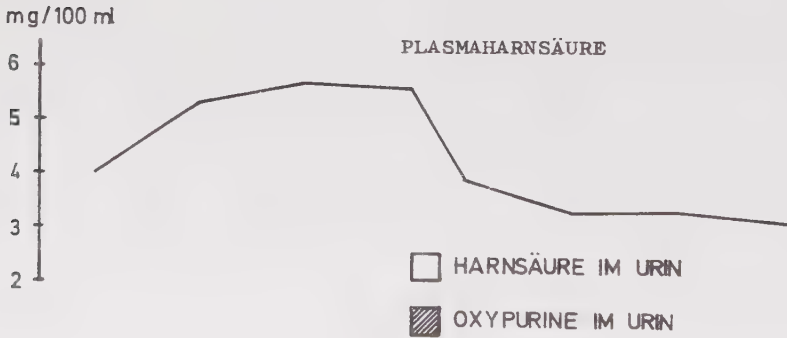
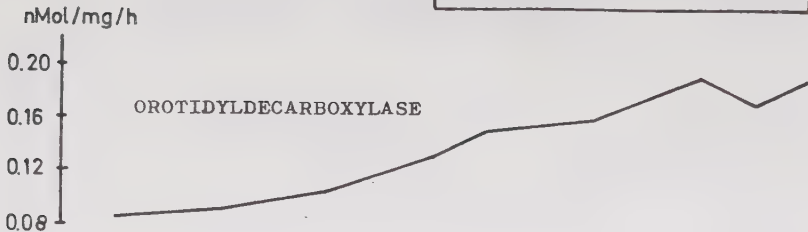


Abbildung 19:

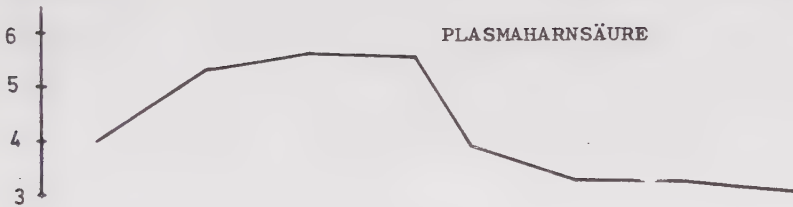
PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (8)

ALLOPURINOL 100 mg / die

BENZBROMARON 20 mg/die

mg / 100 ml



mg / die

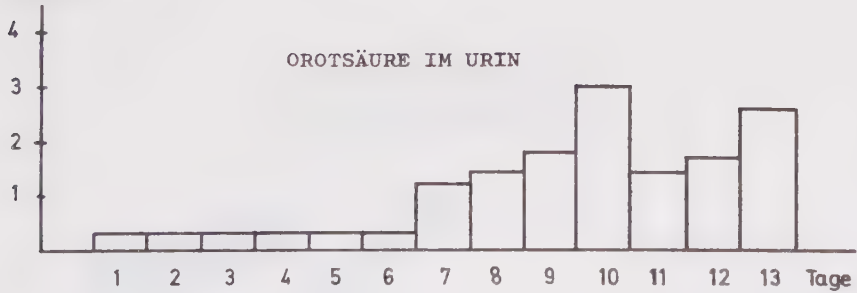
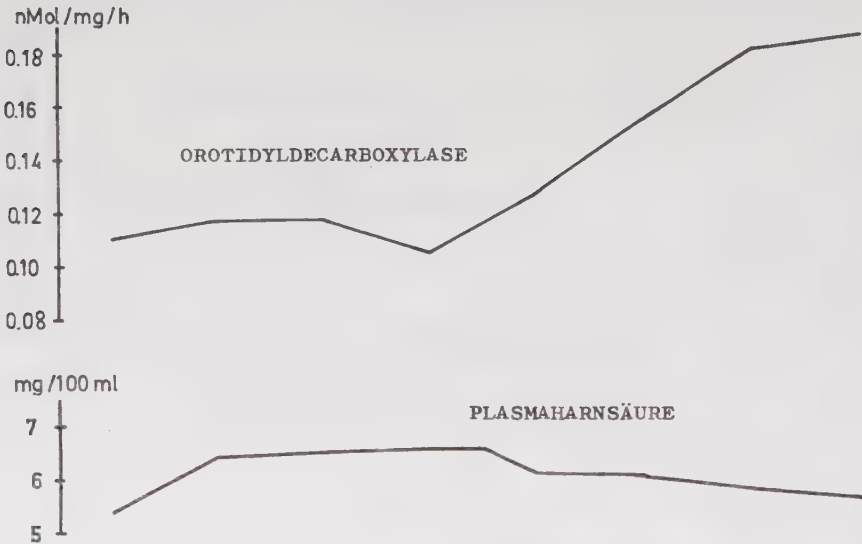


Abbildung 20:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (6)

ALLOPURINOL 100 mg / die



□ HARNSÄURE IM URIN
 ■ OXYPURINE IM URIN

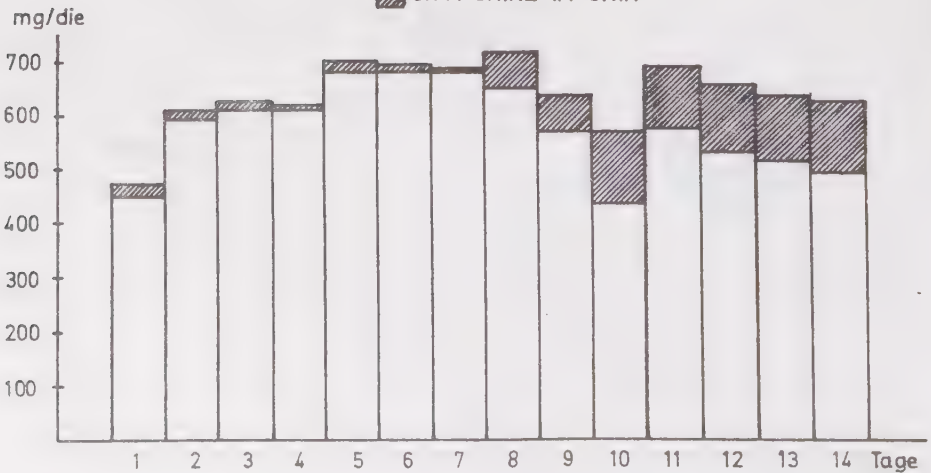


Abbildung 21:

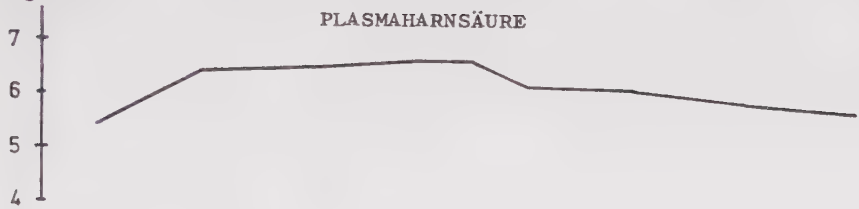
PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

Vp: (6)

ALLOPURINOL 100 mg/die

mg/100 ml

PLASMAHARNSÄURE



mg/die

OROTSÄURE IM URIN

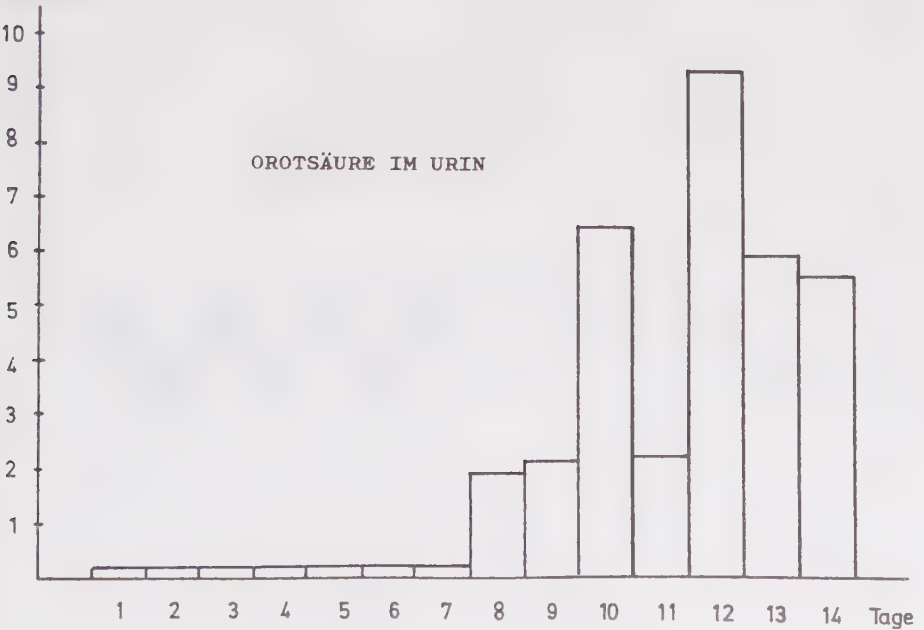


Abbildung 22:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (7)

ALLOPURINOL 100 mg / die

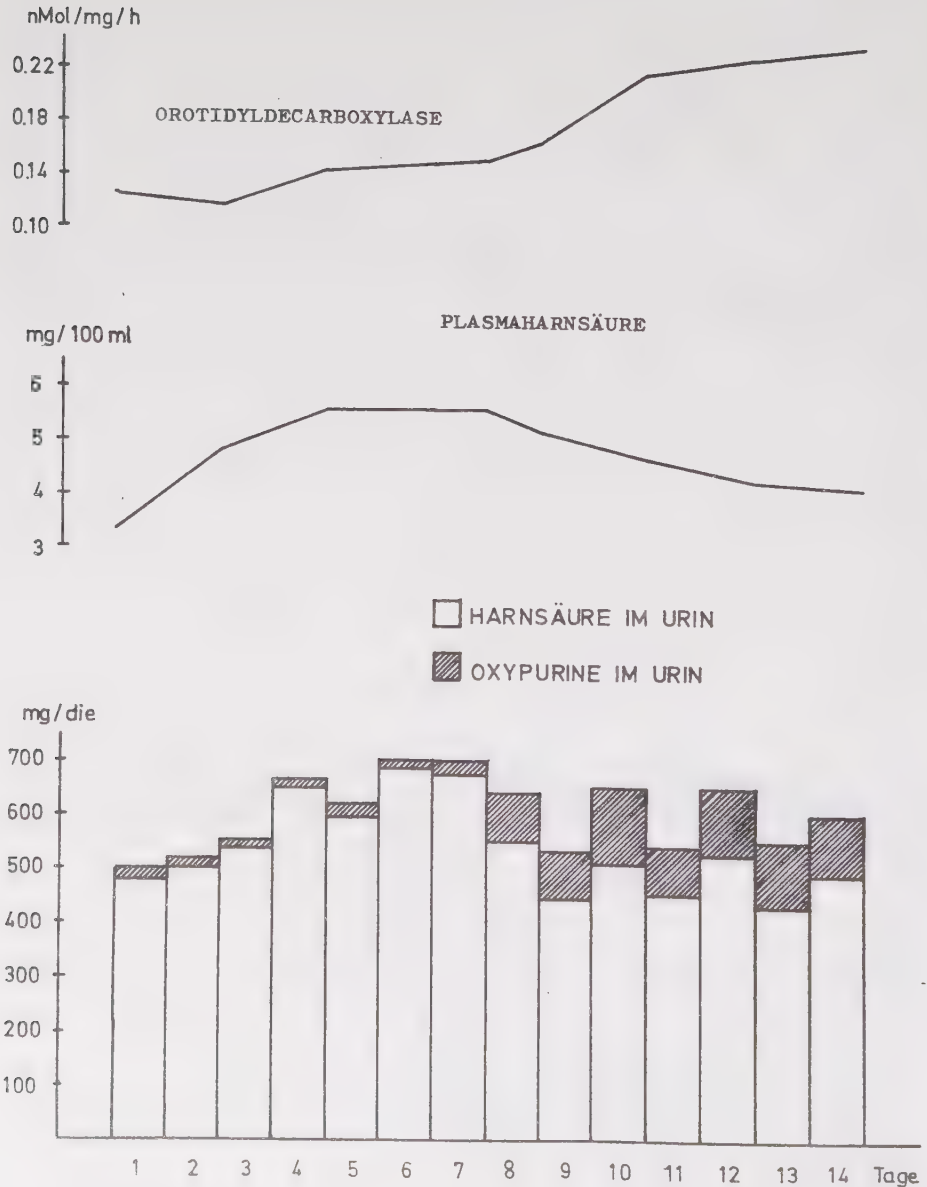


Abbildung 23:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (7)

ALLOPURINOL 100 mg/die

mg / 100 ml

PLASMAHARNSÄURE



mg/die

OROTSÄURE IM URIN

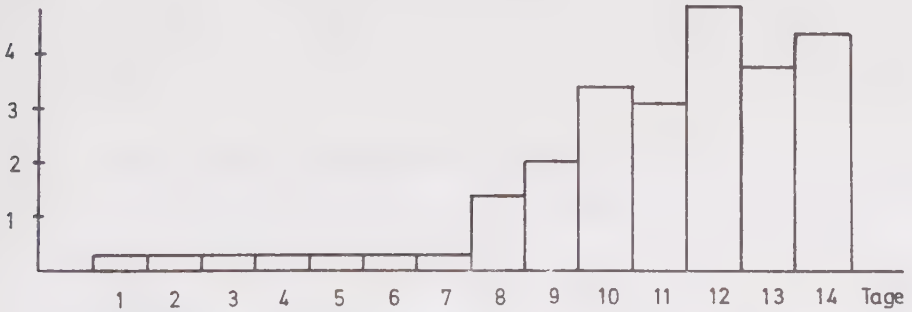
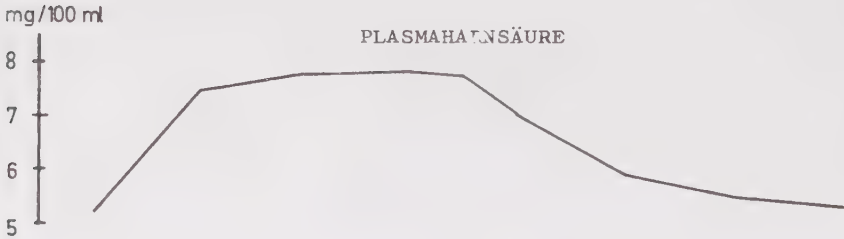
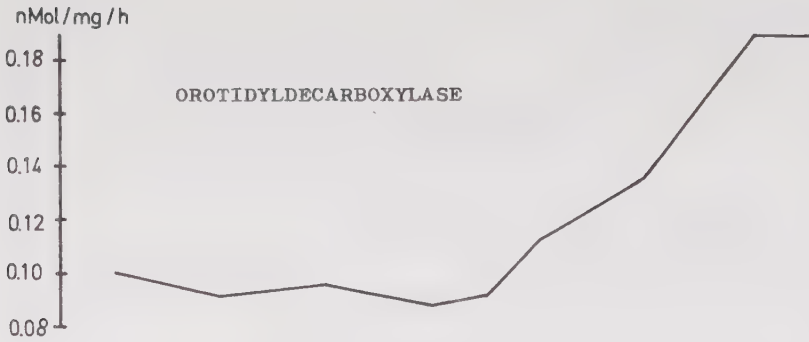


Abbildung 24:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS /die

VP: (8)

ALLOPURINOL 100 mg/die



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

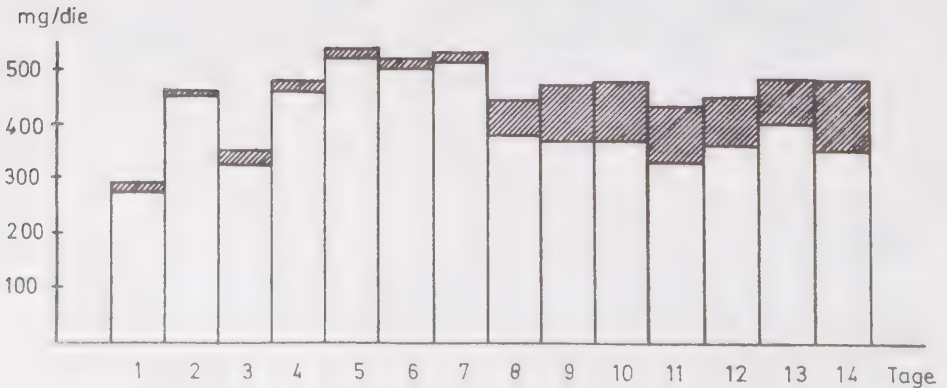


Abbildung 25:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS/die

VP: (8)

ALLOPURINOL 100 mg/die

mg/100 ml

PLASMAHARNSÄURE



mg/die

OROTSÄURE IM URIN

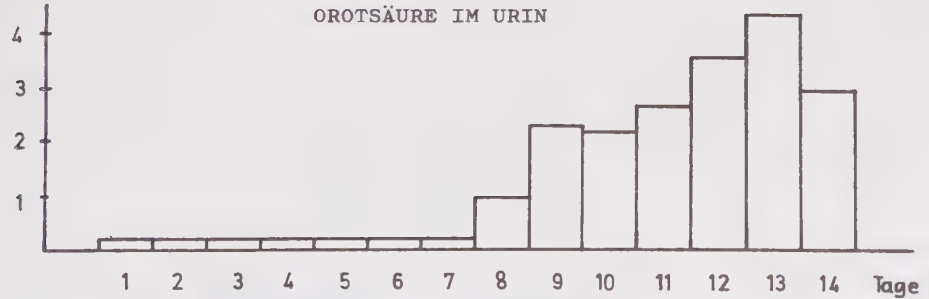


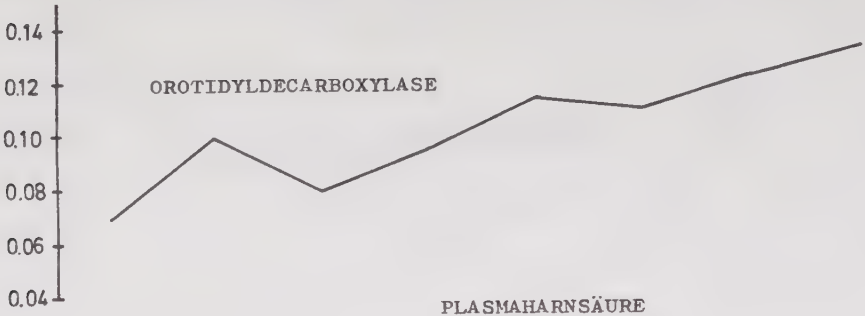
Abbildung 26:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

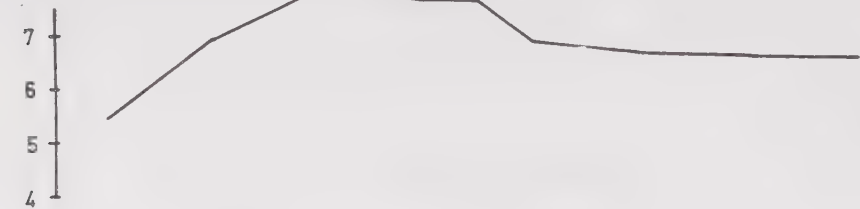
VP: (10)

ALLOPURINOL 100 mg / die

nMol/mg/h



mg/100ml



mg/100 ml

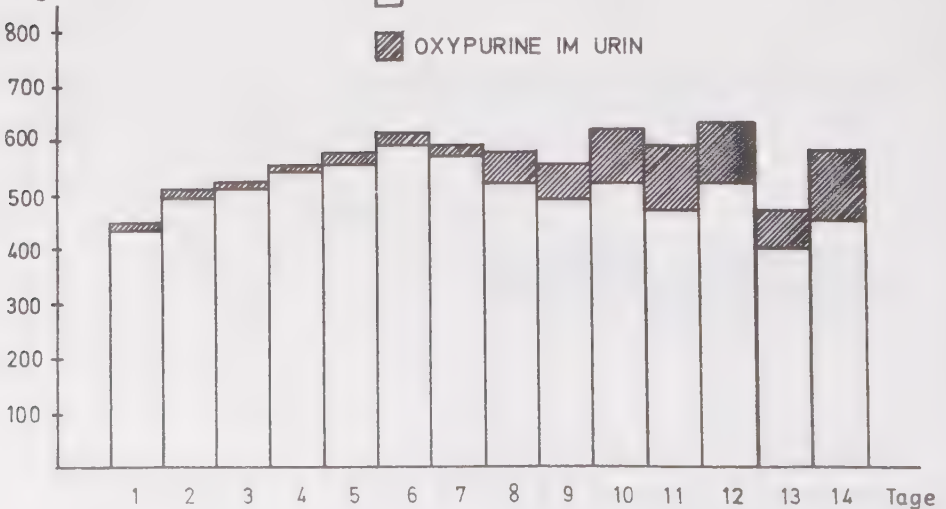


Abbildung 27:

PURINFREIE DIÄT + 2g RNS / die

VP: (10)

ALLOPURINOL 100 mg/die

mg/100 ml

PLASMAHARNsäURE



mg/die

OROTSäURE IM URIN

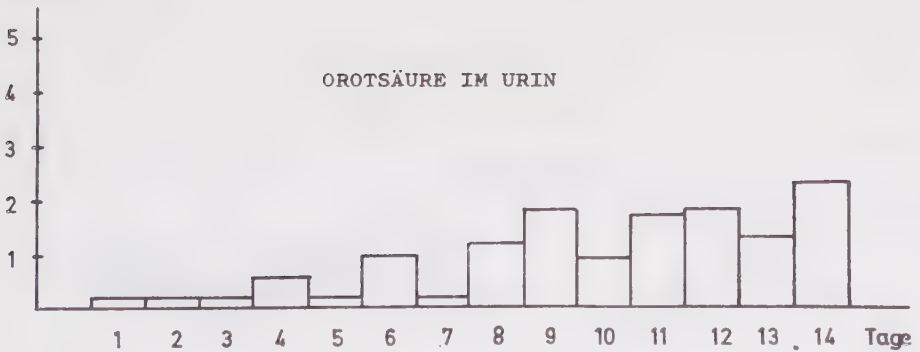
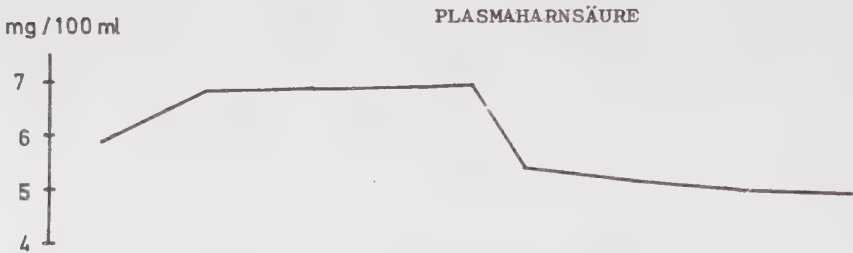
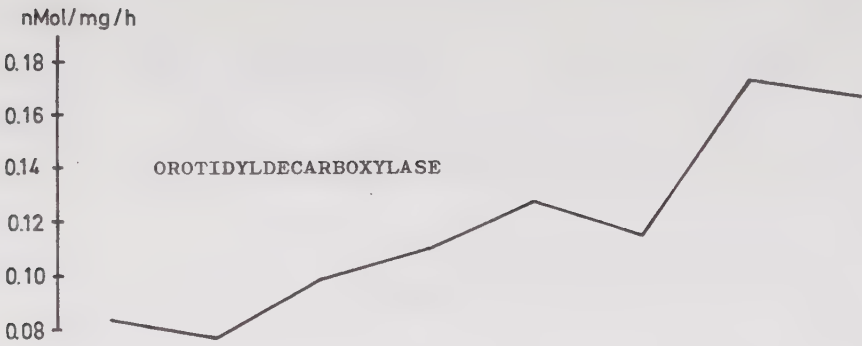


Abbildung 28:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS /die

VP: (11)

ALLOPURINOL 100 mg /die



□ HARNSÄURE IM URIN

▨ OXYPURINE IM URIN

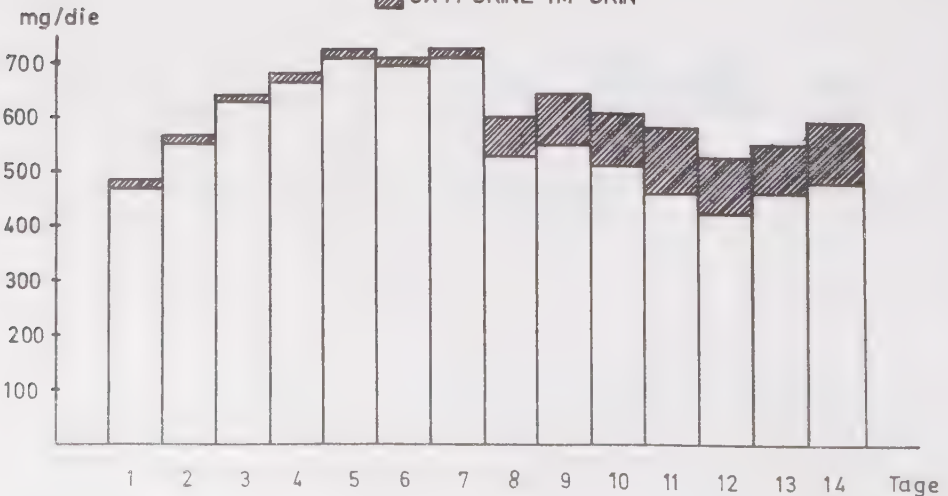


Abbildung 29:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS / die

VP: (11)

ALLOPURINOL 100 mg / die

PLASMAHARNSÄURE

mg/100 ml



OROTSÄURE IM URIN

mg/die

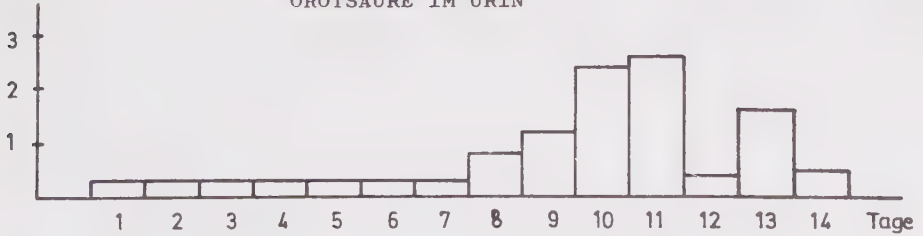


Abbildung 30:

PURINFREIE DIÄT + 2 g RNS /die

VP: (3)

ALLOPURINOL 100 mg /die

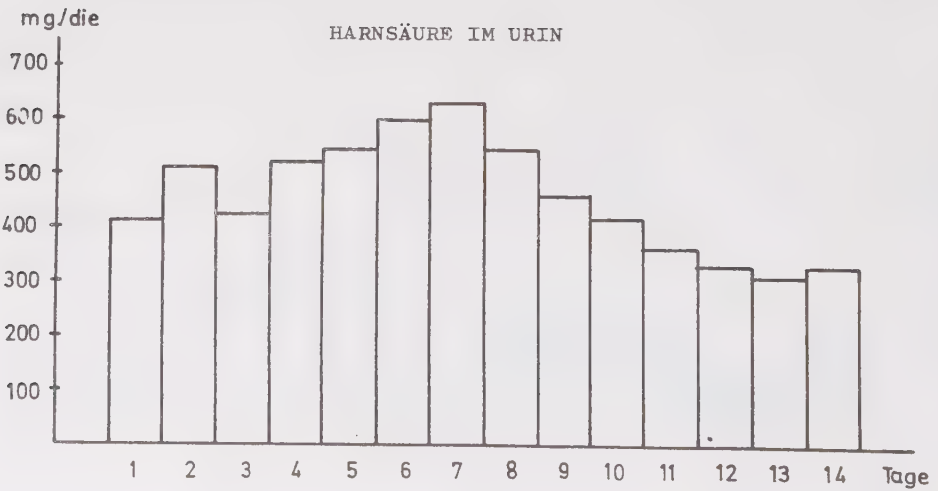
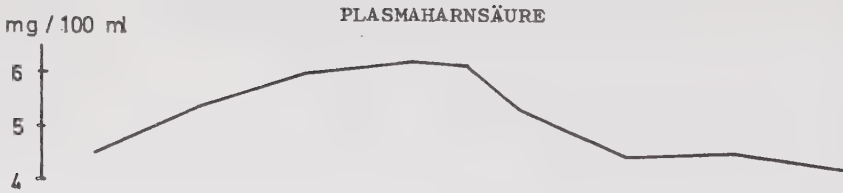


Abbildung 31:

Tabelle 9: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (1).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg h	HS im Plasma mg. %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,100	4,75	1	226	6	--	1548
			2	434	17	--	1576
2	0,108	6,8	3	503	15	--	1590
			4	557	5	--	1252
4	0,098	7,35	5	506	14	--	1892
			6	611	25	--	1944
6	0,106	7,6	7	666	18	-	1612
7	0,114	7,6	8	774	52	0,4	1763
8	0,120	5,9	9	710	56	0,6	1720
			10	704	138	1,2	1868
10	0,150	5,4	11 +	265	52	0,9	828
			12	574	56	1,7	1694
12	0,182	4,7	13 +	466	38	1,0	980
13	0,184	3,7	14 +	573	38	1,0	910
14	0,190	3,7					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze; an den mit + gekennzeichneten Tagen litt die VP unter Durchfall.

Tabelle 10: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (2).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nMol}}{\text{mg h}}$	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,150	6,40	1	230	12	--	1205
			2	375	13	--	1196
2	0,179	7,10	3	509	16	--	1263
			4	582	22	--	1374
4	0,160	8,40	5	561	17	--	1288
			6	729	18	--	1495
6	0,160	9,25	7	726	18	--	1333
7	0,179	9,20	8	713	53	1,7	1384
8	0,194	8,9	9	664	97	1,6	1107
			10	496	122	1,4	1124
10	0,200	7,0	11	628	95	4,6	1292
			12	545	118	3,6	1339
12	0,221	6,0	13	590	123	4,1	1422
13	0,253	5,80	14	406	129	3,5	1235
14	0,248	5,75					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die)

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 11: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (3).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg h	Hs im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,160	4,8	1	355	8	--	920
			2	364	9	--	1196
2	0,166	6,2	3	369	11	--	1336
			4	406	14	--	1157
4	0,158	6,6	5	511	17	--	1228
			6	392	15	--	1280
6	0,169	6,7	7	504	23	--	1174
7	0,180	6,7	8	593	59	1,6	1050
8	0,198	5,2	9	495	69	1,3	1165
			10	479	97	2,2	1184
10	0,220	4,8	11	290	119	2,3	1053
			12	261	142	4,3	1011
12	0,248	4,2	13	274	143	3,2	1137
13	0,244	4,1	14	272	135	3,0	1203
14	0,252	4,1					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 12: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (4).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nMol}}{\text{mg h}}$	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,160	4,6	1	418	24	--	1207
			2	524	21	--	885
2	0,164	5,7	3	618	22	--	1204
			4	611	22	--	1050
4	0,170	7,2	5	609	29	--	1094
			6	700	21	--	1144
6	0,164	7,3	7	800	27	--	1164
7	0,174	7,3	8	804	58	1,2	916
8	0,194	5,6	9	607	77	1,7	816
			10	611	125	1,2	825
10	0,220	4,2	11	550	88	2,2	1250
			12	550	129	1,7	952
12	0,240	4,0	13	575	134	1,9	782
13	0,245	3,6	14	549	131	1,4	972
14	0,237	3,6					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 13: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (5).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg h	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,195	6,05	1	242	15	--	940
			2	352	11	--	1375
2	0,209	6,95	3	400	14	--	1400
			4	392	13	--	960
4	0,205	7,60	5	533	14	--	1221
			6	660	16	--	845
6	0,200	7,60	7	744	29	--	800
7	0,231	7,10	8 +	432	57	1,7	1100
			9 +	311	75	1,1	930
9	0,236	6,30	10 +	314	78	0,8	935
			11	689	87	1,8	1110
11	0,253	5,80	12	541	105	1,6	1035
12	0,249	5,80	13	536	127	0,8	1245
13	0,262	5,40					

Die-VP erhielt vom 7-13 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze; an den mit + gekennzeichneten Tagen litt die VP unter Durchfall.

Tabelle 14: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (6).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg H	Hc im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,069	5,0	1	525	11	--	1145
			2	576	14	--	1220
2	0,066	6,4	3	767	22	--	1190
			4	715	17	--	1185
4	0,061	6,7	5	605	16	--	1020
			6	759	22	--	1215
6	0,077	6,7	7	802	25	--	1120
7	0,088	6,0	8	655	24	0,0	1200
			9	591	115	0,3	1600
9	0,096	5,3	10	582	107	1,5	1655
			11	612	112	1,8	1560
11	0,112	5,0	12	622	127	0,8	1555
12	0,111	4,8	13	597	122	1,5	1570
13	0,111	4.75					

Die VP erhielt vom 7-13 Versuchstag die Kombination (= 100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze

Tabelle 15: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (7).

Zeitp. der Bluta- nahme	ODC nMol mg h	Hb im Plasma mg/%	Urin- säure- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,210	3,1	1	375	13	--	1486
			2	452	13	--	1395
2	0,238	4,4	3	491	18	--	1718
			4	525	15	--	1426
4	0,224	5,0	5	552	19	--	1447
			6	563	15	--	1468
6	0,226	5,0	7	684	56	0,3	1331
7	0,248	3,85	8	413	68	0,9	1441
			9	374	106	0,7	1264
9	0,238	3,3	10	340	105	0,7	1237
			11	472	152	0,6	1465
11	0,322	2,8	12	464	133	0,8	1605
12	0,320	2,7	13	475	114	0,8	1450
13	0,358	2,7					

Die VP erhielt vom 7-13 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 16: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (8).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nMol}}{\text{mg h}}$	HS im Plasma $\frac{\text{mg}}{\text{g}}$	Urin- sam.- tage	HS im Urin $\frac{\text{mg}}{\text{die}}$	Oxypu- rine $\frac{\text{mg}}{\text{die}}$	Orot- säure $\frac{\text{mg}}{\text{die}}$	Kreati- nin $\frac{\text{mg}}{\text{die}}$
0	0,084	4,0	1	552	17	--	925
			2	509	21	--	966
2	0,091	5,5	3	584	14	--	614
			4	440	14	--	526
4	0,116	5,6	5	622	16	--	1102
			6	643	10	--	1045
6	0,139	5,5	7	738	33	1,2	689
7	0,150	5,2	8	568	49	1,4	793
			9	433	6	1,5	969
9	0,158	5,2	10	451	150	3,0	759
			11	455	126	1,4	749
11	0,187	5,5	12	593	106	1,7	841
12	0,167	5,2	13	437	116	2,6	975
13	0,189	5,1					

Die VP erhielt vom 7-13 Versuchstag die Kombination (=100mg Allopurinol plus 20mg Benzbromaron pro die).

Zeichenerklärung: --= unter der Nachweisgrenze

Tabelle 17: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (3).

Zeitp. der Blutab- nahme		HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die			
0		4,25	1	415			
			2	508			
2		5,2	3	423			
			4	507			
4		6,0	5	542			
			6	598			
6		6,2	7	627			
			8	544			
8		5,4	9	453			
			10	412			
10		4,5	11	360			
			12	332			
12		4,6	13	305			
			14	329			
14		4,3					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 100mg Allopurinol/die.

,Tabelle 13: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (6).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nmol}}{\text{mg H}}$	HS im Plasma mg/l	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Urot- saure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,110	5,4	1	455	20	--	1,68
			2	588	16	--	1,68
2	0,113	6,4	3	614	12	--	1,65
			4	608	11	--	1,64
4	0,118	6,5	5	684	21	--	1,60
			6	686	15	--	1,60
6	0,107	6,55	7	672	12	--	1,63
			8	672	30	1,6	1,63
8	0,126	6,1	9	572	12	2,1	1,63
			10	432	115	6,4	1,66
10	0,155	6,0	11	575	112	1,4	1,64
			12	541	126	1,7	1,62
12	0,132	5,8	13	412	125	2,8	1,60
			14	432	132	3,3	1,62
14	0,150	5,5					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 100mg Allopurinol pro d. g.
 Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 19: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (7).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg h	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,127	3,8	1	487	8	--	1462
			2	500	14	--	1571
2	0,118	5,3	3	539	18	--	1433
			4	651	22	--	1470
4	0,142	5,6	5	594	19	--	1492
			6	685	20	--	1485
6	0,144	5,8	7	676	18	--	1450
			8	546	56	1,3	1487
8	0,158	5,6	9	446	97	2,0	1432
			10	504	140	3,3	1561
10	0,214	4,7	11	450	100	3,2	1413
			12	534	106	3,9	1528
12	0,222	4,1	13	428	125	2,7	1465
			14	498	124	3,3	1520
14	0,212	3,8					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 100mg Alloxurinol pro die.
 Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 20: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (8).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nMol}}{\text{mg h}}$	HS im Plasma mg	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Areati- nin mg/die
0	0,105	5,20	1	282	13	--	752
			2	450	9	--	841
2	0,092	7,50	3	329	24	--	840
			4	462	23	--	851
4	0,096	7,75	5	524	19	--	892
			6	552	14	--	944
6	0,083	7,75	7	558	16	--	900
			8	580	66	1,0	1052
8	0,113	7,00	9	326	98	2,3	1015
			10	327	106	2,2	1055
10	0,136	5,90	11	332	106	2,7	400
			12	358	91	3,6	644
12	0,189	5,50	13	395	87	4,4	975
			14	352	154	3,0	841
14	0,139	5,35					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 400mg Allopurinol/die.
 Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 21: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (10).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC $\frac{\text{nMol}}{\text{mg h}}$	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,070	5,5	1	444	11	--	1452
			2	498	16	--	1273
2	0,100	6,9	3	507	15	--	1365
			4	540	13	0,6	1547
4	0,080	7,85	5	553	19	--	1484
			6	590	20	0,9	1423
6	0,096	7,65	7	573	21	-	1507
			8	521	57	1,2	1388
8	0,116	6,25	9	490	64	1,8	1462
			10	523	101	0,9	1548
10	0,110	6,65	11	472	120	1,7	1472
			12	420	110	1,8	1432
12	0,122	6,65	13	406	71	1,5	1265
			14	446	130	2,3	1520
14	0,135	6,65					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 100mg Allopurinol/die.
 Zeichenerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

Tabelle 22: Zusammenstellung der Labor-Ergebnisse der VP (11).

Zeitp. der Blutab- nahme	ODC nMol mg h	HS im Plasma mg %	Urin- sam.- tage	HS im Urin mg/die	Oxypu- rine mg/die	Orot- säure mg/die	Kreati- nin mg/die
0	0,085	5,9	1	471	15	--	1482
			2	551	17	--	1521
2	0,073	6,8	3	629	15	--	1680
			4	666	17	--	1426
4	0,104	6,9	5	712	13	--	1443
			6	691	9	--	1466
6	0,111	6,95	7	705	14	--	1542
			8	533	69	0,3	1426
8	0,129	5,4	9	550	78	1,2	1254
			10	510	96	2,4	1257
10	0,115	5,25	11	466	123	2,6	1465
			12	425	105	0,4	1465
12	0,174	5,05	13	466	90	1,6	1606
			14	478	109	0,5	1438
14	0,167	4,95					

Die VP erhielt vom 8-14 Versuchstag 100mg Allopurinol pro die.
 Zeichnerklärung: --: unter der Nachweisgrenze.

VIII Literaturverzeichnis

- 1) Becher, H.: Einfluß von Benzbromaronum auf den Purin-nukleotidstoffwechsel.
Therapiewoche 27, 7 (1977)
- 2) Berliner, R.W., Hilton, J.G., Yü, T.F., Kennedy, T.:
The renal mechanism for urate excretion in man.
J. clin. Invest. 29, 396 (1950)
- 3) Boothby, D.F., Du Bois, E., Albritten, E.C. (Hrsg.):
Handbook of biological data: Standard values in nut-
rition and metabolism.
W.B. Saunders, Philadelphia (1954)
- 4) Chalmers, R.A., Krämer, H., Scott, J.T., Watt, R.W.:
A comparative study of the xanthin oxidase inhibi-
tors allopurinol and oxypurinol in man.
Clin. Science 35, 353 (1968)
- 5) Delbarre, F., Auscher, C., Olivier, J.C., Rose, A.:
Traitement des hyperuricemies et la goutte par de
derives du benzofuranne.
Sem. Hôp. (Paris) 43, 1127 (1967)
- 6) Elion, G.B., Callahan, S., Nathan, H., Bieber, S., Rundles,
R.W., Hitchings, G.H.: Enzymatic and metabolic studies
with allopurinol.
Ann. rheum. Dis. 25, 608 (1966)
- 7) Elion, G.B., Yü, T.F., Gutman, A.B., Hitchings, G.:
Renal clearance of oxipurinol, the chief metabolite
of allopurinol.
Amer. J. Med. 45, 69 (1968)
- 8) Emmerson, B.P.: Hereditiy in primary gout.
Aust. Ann. Med. 168 374 (1960)

- 9) Fox, R.M., Rose-Smith, D., O'Sullivan, W.J.: Orotiduria induced by allopurinol.
Science 168, 861 (1970)
- 10) Fox, R.M., Wood, M.H., O'Sullivan, W.J.: Studies on the coordinate activity and liability of orotidylate phosphoribosyltransferase and decarboxylase in human erythrocytes and the effects of allopurinol administration.
J. clin. Invest. 50, 1050 (1971)
- 11) Geigy, I.R. AG: Documenta Geigy.
Wissenschaftliche Tabellen, Basel (1969)
- 12) Goldfinger, S., Seegmiller, J.E.: The renal excretion of oxypurines.
J. Clin. Invest. 44, 623 (1965)
- 13) Gröbner, W., Zöllner, N.: Zur Beeinflussung der Purin- und Pyrimidinsynthese durch Allopurinol.
Klin. Wschr. 53, 255 (1975)
- 14) Haug, H.: Die Epidemiologie der Hyperurikämie.
Österr. Ärztezt. 29, 22 (1974)
- 15) Herrick, W.W., Tyson, L.: Gout, the forgotten disease.
Amer. J. med. Sci. 192, 483 (1936)
- 16) Jaffe, M.: Kreatininbestimmung im Urin.
Hoppe-Syler's Z. Physiol. Chem. 10, 355 (1886)
- 17) Karlson, P.: Abbau der Purinbasen. In: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.
7. Aufl. Thieme, Stuttgart (1970)
- 18) Kelley, W.N., Gröbner, W., Holmes, E.: Current concepts in the pathogenesis of hyperuricemia.
Metabolism 22, 939 (1970)

- 19) Kelley, W.N., Beardmore, T.D.: Allopurinol: Alteration in pyrimidine metabolism in man.
Science 169, 388 (1970)
- 20) Kelley, W.N., Beardmore, T.D., Fox, I.H., Meade, J.C.: Effects of allopurinol and oxypurinol on pyrimidine synthesis in cultured human fibroblasts.
Biochem. Pharmacol. 20, 1471 (1971)
- 21) Klinenberg, J.R., Goldfinger, S., Bradley, K.H., Seegmiller, J.E.: An enzymatic spectrophotometric method for the determination of xanthine and hypoxanthine.
Clin. Chem. 13, 853 (1967)
- 22) Levine, R., Luft, R., Ahrens, E.H., jr. (Hrsg.): The use of liquid formula diets in metabolic studies; 15 years' experience.
Adv. metabolic dis. 4, 297 (1970)
- 23) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.: Protein measurement with the folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193, 265 (1951)
- 24) Masbernard, A., Francoz, P.: Zur urikosurischen Wirkung von Benzbromaronum.
Therapiewoche 19, 1553 (1969)
- 25) Matzkis, F., Berg, G.: Behandlung der Hyperurikämie mit einer Kombination von Allopurinol und Benzbromaronum.
Dtsch. med. Wschr. 101, 1568 (1976)
- 26) Mertz, P.D.: Gicht, Diabetes mellitus und Arteriosklerose in der Überfluggesellschaft.
Freiburger Universitätsblatt 9, 65, (1969)
- 27) Mertz, P.D., Babuke, G.: Epidemiologie und klinisches Bild der primären Gicht. Beobachtungen zwischen 1948 und 1968.
Münchn. med. Wschr. 16, 617 (1971)

- 28) Mertz,P.D.: Vermindertes Risiko bei der Behandlung von Gicht und Hyperurikämie.
Dtsch. med Wschr. 101, 1288 (1976)
- 29) Mertz,P.D., Gößmann,E.: Renale Ausscheidung von Harnsäure unter kombinierter Behandlung mit Allopurinol und Benzbromaronum in steigender Dosierung.
Therapiewoche 27, 5905 (1977)
- 30) Müller,M.M., Kaiser,E.: Die Regulation des Purinstoffwechsels und seine medikamentöse Beeinflussung.
Dtsch. med. Wschr. 100, 198 (1975)
- 31) Praetorius,E., Poulsen,H.: Enzymatic determination of uric acid with detailed directions.
Scand. J. Clin.Lab. Invest. 5, 273 (1953)
- 32) Rogers, L.E., Porter, F.S.: Hereditary orotic aciduria. II. A urinary screening test.
Pediat. 42, 423 (1968)
- 33) Rundles,R.W., Wyngaarden,J.B., Hitchings,G.H., Elion, G.B., Silberman, H.R.: Effects of a xanthine oxidase inhibitor on thiopurine metabolism, hyperuricemia and gout.
Trans. Ass. Amer. Phycns. 76, 126 (1963)
- 34) Rundles,R.W., Metz,E.N., Silberman,H.R.: Allopurinol in the treatment of gout.
Ann. intern. Med. 64, 229 (1966)
- 35) Siegenthaler,W.: Kreatinin. In: Klinische Pathophysiologie.
3. Aufl. Thieme, Stuttgart (1976)
- 36) Wecker,L.: Vergleich der Wirkung von 500mg Allopurinol/die gegen 20mg Benzbromaronum/die auf Serumharnsäure, renale Harnsäureausscheidung, Oxypurin- und Orotsäureausscheidung sowie die Aktivität der Orotidyldecarboxylase gesunder Versuchspersonen unter standardisierten Ernährungsbedingungen.
Dissertation (1981)

- 37) Wyngaarden, J.B., Rundles, R.W., Metz, E.N.: Allopurinol in the treatment of gout.
Ann. intern. Med. 62, 842 (1965)
- 38) Zöllner, N. (Hrsg.): Thannhäusers Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten.
2. Aufl. Thieme, Stuttgart (1957)
- 39) Zöllner, N.: Eine einfache Modifikation der enzymatischen Harnsäurebestimmung. Normalwerte in der deutschen Bevölkerung.
Z. Klin. Chem. 1. Jahrgang, Heft 6 (1963)
- 40) Zöllner, N.: Die Behandlung der Gicht und der Uratnephrolithiasis mit Allopurinol.
Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 72, 781 (1966)
- 41) Zöllner, N., Schattenkirchner, M.: Allopurinol in der Behandlung der Gicht und der Harnsäurenephrolithiasis.
Dtsch. med. Wschr. 92, 645 (1967)
- 42) Zöllner, N., Stern, G., Gröbner, W., Dofel, W.: Über die Senkung des Harnsäurespiegels im Plasma durch Benzbromaronum.
Klin. Wschr. 46, 1318 (1968)
- 43) Zöllner, N., Dofel, W., Gröbner, W.: Die Wirkung von Benzbromaronum auf die renale Harnsäureausscheidung Gesunder.
Klin. Wschr. 7, 426 (1970)
- 44) Zöllner, N., Gröbner, W.: Influence of oral ribonucleic acid on orotaciduria due to allopurinol administration.
Z. ges. exp. Med. 156, 317 (1971)

Herrn Professor Dr. N. Zöllner
möchte ich danken für die Mög-
lichkeit an seiner Klinik zu
arbeiten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn
Professor Dr. W. Gröbner für
die Überlassung des Themas.

Lebenslauf

Ich, Josef Bartl, wurde am 8.9.42 in Erding geboren. Von 1948 bis 1956 besuchte ich die Volksschule, anschließend drei Jahre eine landwirtschaftliche Berufsschule.

Von 1966 bis 1969 nahm ich am Telekolleg teil, anschließend an einem Abitur-Fernkurs.

Reifeprüfung: Mai/Juni 1973.

Studium an der LMU-München ab WS 73/74.

Abschluß des Studiums der Medizin mit dem dritten Staatsexamen im Oktober 1979.

Vom April 1980 bis September 1981 war ich Assistenzarzt in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses in Passau.

Seit Oktober 1981 bin ich Assistenzarzt in der Orthopädischen Klinik in Rummelsberg.

